All'Ill.mo Prof. Di Rio Coa
Paraggio dell'A.

ACCADEMIA REALE DELLE SCIENZE DI TORINO
(Anno 1895-96).

SULLE CELLULE
DEL
SANGUE DELLA LAMPREDA

345

MEMORIA

DEL DOTTOR
ERMANNO GIGLIO-TOS
ASSISTENTE AL REGIO MUSEO DI ANATOMIA COMPARATA

CON 1 TAVOLA

TORINO
CARLO CLAUSEN
Libraio della R. Accademia delle Scienze
1896

ACCADEMIA REALE DELLE SCIENZE DI TORINO
(Anno 1895-96).

SULLE CELLULE
DEL
SANGUE DELLA LAMPREDA

MEMORIA

DEL DOTTOR
ERMANNO GIGLIO-TOS
ASSISTENTE AL REGIO MUSEO DI ANATOMIA COMPARATA

CON 1 TAVOLA

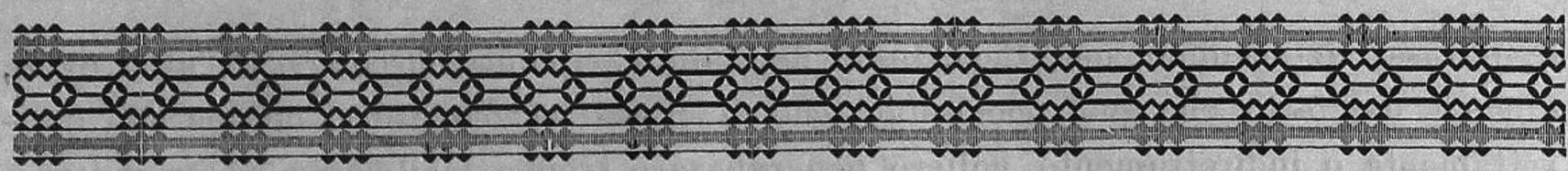
TORINO
CARLO CLAUSEN
Libraio della R. Accademia delle Scienze
1896

Estr. dalle *Memorie della Reale Accademia delle Scienze di Torino,*

SERIE II, TOM. XLVI.

Approvato nell'Adunanza del 26 Aprile 1896.

Torino, Stabilimento Tipografico Vincenzo Bona.



Gli elementi cellulari del sangue dei vertebrati, la loro struttura, la loro forma, la loro origine furono oggetto sempre e specialmente in questi ultimi tempi di numerose e diligenti ricerche, rese pubbliche nei moltissimi lavori, di cui è ricchissima la letteratura di questo importante argomento.

Però, gli Autori, che si diedero a queste ricerche, ricorsero quasi tutti ai vertebrati superiori: mammiferi ed uccelli; o, se nella comparazione dovettero far oggetto delle loro osservazioni anche dei vertebrati inferiori, tutt' al più discesero fino agli anfibi: alle rane, alle salamandre e raramente a qualche pesce.

Ma gli infimi fra i vertebrati, che presentino sangue con corpuscoli rossi, i Ciclostomi, furono quasi trascurati.

Per quanto riguarda i Mixinoidi, possiamo trovare una ragione di questo fatto nella difficoltà di avere questi animali, in quello stato di conservazione che si richiede per tali delicati studi istologici. Ma così non è per le lamprede, e specialmente poi per la lampreda di fiume che è comunissima nelle nostre regioni.

Cosicchè, se qualche nozione si vuol avere su questo speciale argomento per i Mixinoidi, è necessario ricorrere al lavoro del Müller (1) sulla loro anatomia, oppure ad un altro più recente del Thompson d'Arcy (2).

La confusione e l'incertezza che regnò per molto tempo sulla forma dei corpu-

---

(1) Müller J., *Untersuchungen über die Eingeweide der Fische* in " Abhandlungen d. k. Akademie d. Wissenschaften zu Berlin ", 1843, p. 119, tab. II, fig. 10, 11.

(2) Thompson d'Arcy W., *Note on the Blood-corpuscles of the Cyclostomata*, in " Anat. Anz. ", II, 1887, p. 630.

scoli rossi del sangue nei Ciclostomi, da taluni ritenuti circolari, da altri ovali, dipende dal fatto, che quei pochissimi, che di questo argomento si occuparono o direttamente o indirettamente, vollero generalizzare troppo facilmente ed estendere a tutti i Ciclostomi quella struttura e forma dei globuli rossi che solo in qualcuno di essi avevano osservato. Così, per esempio, Huxley nella sua " Anatomy of the Vertebrata „ attribuisce a tutti i Ciclostomi, — e perciò anche ai Mixinoidi, — la forma circolare dei corpuscoli rossi del sangue della lampreda, e Gulliver ripeteva più tardi la medesima asserzione. Altri invece, riputando erronee le osservazioni dell'Huxley, attribuirono a tutti i Ciclostomi — e perciò anche ai Petromizontidi — la forma ellittica dei corpuscoli rossi della *Myxine glutinosa*.

La verità invece si è: che, nel medesimo gruppo dei Ciclostomi, la lampreda comune, — come taluni già asserirono, e come dimostrerò in questo lavoro — ha corpuscoli rossi circolari, mentre i Mixinoidi o, per meglio dire, la *Myxine glutinosa* ha corpuscoli rossi di forma ellittica, come Müller e Thompson affermarono.

Quanto alla lampreda marina *(Petromyzon marinus)*, stando a quel che ne dice il Thompson ora citato, avrebbe corpuscoli rossi circolari, ma il Renaut (1) in un suo lavoro anteriore asserisce che taluni di essi sono circolari, altri ellittici, e che ne trovò dell'una e dell'altra forma nel sangue preso dal cuore di uno stesso individuo.

Veniamo ora a trattare più specialmente della lampreda di fiume che fu oggetto delle mie ricerche, sia allo stato larvale *(Ammocoetes branchialis)*, sia allo stato adulto *(Petromyzon Planeri)*.

Wagner (2) fu il primo che descrisse i corpuscoli rossi e bianchi del sangue dell'*Ammocoetes branchialis* e attribuì ai primi un contorno circolare, ma li disse biconcavi come quelli dei mammiferi.

Alcuni anni dopo Wharton Jones (3) in un lavoro generale sui corpuscoli del sangue degli animali, non descrisse, ma diede solo alcune figure dei corpuscoli rossi del sangue della lampreda. Essi vi sono rappresentati circolari, ma in una figura, molto mal fatta però, parrebbe che li abbia voluto rappresentare anche biconcavi.

Gulliver (4) disse che la maggior parte dei corpuscoli rossi della lampreda comune sono circolari, ma taluni invece leggermente ovali: che solo raramente o eccezionalmente hanno forma di disco biconcavo per una irregolare od ineguale depressione sulle due faccie; ma che generalmente sono, o piatti, o leggermente biconvessi. Aggiunge inoltre che questa forma può alterarsi sotto l'azione di cause diverse.

Nel 1881 i corpuscoli del sangue della lampreda furono oggetto di ricerche speciali del Renaut (5), il quale li disse di forma circolare e li fece derivare dai

---

(1) Renaut J., *Recherches sur les éléments cellulaires du sang*, in " Archives de Physiol. norm. et pathol. „, II sér., T. VIII, 1881. Paris, p. 649-671.

(2) Wagner R., *Neue Beobachtungen über Blut und Lymphkörnchen der verschiedenen Thiere*, in " Isis „, t. 26, 1833, p. 1011.

(3) Wharton J., *The Blood-corpuscle considered in its different phases of Development in the Animal Series*, in " Philos. Transactions of the R. Soc. of London „, 1846.

(4) Gulliver G., *On certain points in the Anatomy and Economy of the Lampreys*, in " Proced. Zool. Soc. of London „, 1870, pag. 844.

(5) Renaut J., *Recherches sur les éléments cellulaires du sang*, in " Arch. Phys. norm. et pathol. „, 1881, p. 662.

corpuscoli bianchi. Avrò occasione di ritornare sulle sue conclusioni nel corso del presente lavoro ed ometto perciò qui il riassunto delle medesime, che io d'altronde non accetto pienamente.

Ma poco di poi si attribuì di nuovo ai globuli rossi del sangue della larva di *Petromyzon fluviatilis* una forma ovale; e questo dal Shipley (1).

È noto come da molti sia stato discusso, se il *Petromyzon Planeri*, la cui larva è conosciuta col nome di *Ammocoetes branchialis*, ed è tanto comune presso di noi, non sia la medesima specie che il *P. fluviatilis*. Se in quest'ultimo, come afferma Shipley, i corpuscoli rossi del sangue fossero realmente ellittici, non v'è dubbio che questo sarebbe un carattere specifico di grande importanza per la distinzione di quelle due specie, da molti e dallo stesso Shipley ritenute identiche. Ma io non credo che sia così. Quest'autore osservò i corpuscoli rossi, non già allo stato fresco, ma in embrioni certamente fissati con un liquido fissatore e probabilmente con sublimato. Ora la forma ellittica da lui descritta, come pure altre apparenze che essi assumono, sono dovute ai liquidi fissatori usati che li alterano più o meno, come dirò in avanti.

Infine è da aggiungersi a questi un piccolo lavoro, che vide la luce nel 1888, e che volge sullo stesso argomento. In esso l'autore, il Gage (2), ritorna a dare ai corpuscoli rossi della lampreda la forma biconcava, indicata dal Wagner, ed anzi vi aggiunge che anche questi, come quelli dei mammiferi, si agglomerano a somiglianza di rotoli di monete.

Il Wiedersheim (3), che riferisce la stessa cosa, la tolse forse dal lavoro suddetto.

Com'è facile scorgere da questo breve cenno storico bibliografico, i lavori su questo speciale argomento sono pochi, e abbastanza disparate sono le opinioni. Se a ciò si aggiunge che anche in quelli relativamente recenti, le osservazioni e le ricerche furono condotte in modo superficiale e con metodi non più rispondenti alle esigenze della scienza moderna, si comprenderà facilmente come l'argomento sia tutt'altro che esaurito.

Io ho ripreso lo studio delle cellule del sangue nella lampreda e credo non privo di interesse il pubblicare i risultati delle mie ricerche, le quali si riferiscono principalmente alla forma, alla struttura ed alle modificazioni che gli elementi subiscono nel sangue circolante; in un altro lavoro tratterò della loro origine.

Metodi usati.

Mi servirono specialmente per queste ricerche le forme larvali della lampreda comune *(Ammocoetes branchialis)*, che si trovano abbondanti ed ancora viventi sui mercati di Torino, mentre le forme adulte (*Petromyzon Planeri*) vi sono assai scarse e si trovano generalmente morte. Tuttavia anche il sangue di queste ultime venne

---

(1) Shipley A. E., *On some Points in the Development of Petromyzon fluviatilis*, in " Quarter. Journ. of Microsc. Scien. „, vol. XXVII, N. Ser., London, 1887, p. 343.

(2) Gage S. H., *Form and Size of Red Blood-corpuscles of Adult and Larval Lampreys*, in " Proc. Amer. Soc. Micros. „, X, 1888, p. 77-83; " Journ. R. Micros. Soc. London „, 1889, p. 494 (*riassunto*).

(3) Wiedersheim R., *Grundriss der vergleich. Anatomie d. Wirbelthiere*, 1893, p. 465.

esaminato in alcuni individui viventi che potei trovare; ma esso non mi presentò differenza alcuna da quello delle larve.

Le mie osservazioni vennero fatte, tanto sopra individui appena pescati, quanto sopra individui conservati per vari giorni in un acquario, senza che loro venisse fornito cibo. Non ho osservato differenze nella struttura delle cellule del sangue in queste due serie di individui.

Siccome i corpuscoli rossi od eritrociti del sangue di questi animali si alterano nella forma a contatto coll'aria assai più facilmente e più presto che quelli degli altri vertebrati, è necessario agire per l'osservazione e per la confezione dei preparati colla massima celerità. Io procedevo perciò nel seguente modo.

Asciugata per bene la lampreda, sì da evitare possibilmente che, o cellule, od organismi estranei si mescolassero col sangue, tagliavo colle forbici il corpo trasversalmente, o immediatamente dietro la bocca in corrispondenza di quei due organi muscolari pulsanti, fatti a mo' di ampolla, visibilissimi dall'esterno nella regione ventrale, e che lo Schneider (1) chiamò velo boccale o *velum*, oppure in un tratto qualunque della regione branchiale; oppure ancora, se desiderava una maggiore quantità di sangue, nella regione del cuore, cioè immediatamente dietro all'ultima fessura branchiale. Di tutto il lungo corpo della lampreda è questo il solo tratto da cui si possa ottenere una discreta quantità di sangue. Non ho scorto poi alcuna differenza notevole tra gli elementi del sangue presi in queste diverse regioni.

Giova osservare che, così facendo, il liquido che esce dal corpo tagliato della lampreda, non è sangue puro, ma sangue misto a linfa che uscendo dagli spazi linfatici inevitabilmente si mescola con esso. Ciò tuttavia, per le ricerche che ci occupano, non produce alcun inconveniente.

Tagliato così il corpo, se voleva esaminare il sangue fresco, sollecitamente portava una goccia di esso a contatto del porta-oggetti, ricoprendolo subitamente col copri-oggetti ed esaminando tosto. Tutto ciò nel minor tempo possibile. Ma non poteva così impedire che almeno una piccola parte dei globuli rossi venisse alterata e specialmente quelli più verso la periferia e più a contatto coll'aria. Tuttavia la osservazione si poteva fare su quegli eritrociti che rimanevano più nell'interno, non deformati, perchè protetti dagli altri.

Un preparato simile si può conservare per qualche tempo, — per alcune ore ed anche per un giorno o due — se si ha la precauzione di lutare il copri-oggetti con olio; e ciò a fine di evitare l'essiccamento del preparato.

Anche una soluzione al 0,50 % di cloruro sodio serve a che gli eritrociti conservino l'emoglobina per molte ore.

L'osservazione del sangue diretta ed a fresco mi fu di grande utilità specialmente per lo studio degli eritrociti.

Se poi intendeva procedere alla colorazione delle cellule e delle loro parti, allora ricorreva alla loro fissazione o col calore o con liquidi fissatori.

---

(1) Schneider A., *Beiträge zur vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Wirbelthiere*, Berlin, 1879, p. 83.

La fissazione col calore mi diede ottimi risultati. Vi procedeva nel modo solito. Dopo di aver distesa sul porta-oggetti una piccola goccia di sangue in uno straterello possibilmente molto sottile lo portava su di una fiamma, per produrre la coagulazione del protoplasma e l'essiccamento della goccia. Aveva cura di agire colla massima sollecitudine affinchè non avvenissero alterazioni nella forma degli elementi, ciò che però non ho potuto evitare per gli eritrociti. Ma per lo studio dei leucociti e per la struttura del nucleo ho trovato questo metodo di grande utilità.

In questi preparati ne scapitano alquanto, più che la forma, le dimensioni apparenti degli elementi.

Come dirò più avanti, gli eritrociti della lampreda si possono considerare quasi come vescichette piene di emoglobina, e perciò di forma non determinata e propria come quelli degli altri vertebrati, ma dipendente dalle condizioni in cui si trovano. Così che, se essi sono sospesi nel plasma, e perciò sottoposti ad ugual pressione in tutti i sensi, hanno forma sferica; ma questa si muta in discoide, quando sieno compressi fra due vetrini od anche semplicemente debbano pel loro proprio peso poggiare su di un corpo.

Ne segue che in un preparato fissato col calore, siccome non è possibile di stendere il sangue in uno straterello sottilissimo ed uniforme come sarebbe desiderabile, nei punti dove il plasma sanguigno è più abbondante e perciò gli eritrociti ed i leucociti vi stanno sospesi, avvenendo l'essiccamento rapidamente, essi vengono fissati nella loro forma sferica. Mentre che, verso i margini della goccia, dove lo strato di plasma naturalmente è tenuissimo, semplicemente pel solo poggiare sul vetro ed anche in parte per l'adesione con questo, essi si appiattiscono diventando discoidi, ma necessariamente anche si allargano. Per cui in uno stesso preparato le dimensioni dei medesimi elementi appaiono maggiori verso la periferia e minori nella parte più interna; ed è perciò anche necessario e nelle misure e nelle figure che ho dato, che si tenga conto di questo aumento di diametro.

Se questo è un inconveniente, è tuttavia largamente compensato dal vantaggio, che, negli elementi appiattiti, lo strato di protoplasma che forma il corpo della cellula, essendo più sottile, permette di potere studiar meglio la struttura sua ed anche del nucleo.

Se poi faceva uso di reagenti liquidi per la fissazione, allora, appena tagliato il corpo nella regione del cuore per avere sangue in maggiore quantità, tuffava la estremità del corpo della lampreda, da cui sgorgava il sangue, subito nel liquido fissatore, affinchè le cellule passassero direttamente dal corpo nel liquido e si evitassero così quelle alterazioni di forma che avvengono immediatamente a contatto dell'aria.

La fissazione dei globuli rossi del sangue di lampreda presenta però gravi difficoltà appunto per la loro struttura; tanto che si sarebbe condotti facilmente in errore, se nel loro esame non si controllassero le osservazioni degli elementi fissati con quelli freschi.

Il Dr Fischer di Lipsia in due recenti lavori (1) richiamò giustamente l'atten-

(1) Fischer A., *Zur Kritik der Fixirungsmethoden und der Granula*, in " Anat. Anzeig „, Bd. IX, 1894, p. 678. — *Neue Beiträge zur Kritik der Fixirungsmethoden*, in " Anat. Anz. „, Bd. X, 1895, p. 769.

zione degli istologi sulle alterazioni di struttura, che provocano nelle cellule gli agenti fissatori più comunemente usati nella microscopia; per cui facilmente potrebbero essere considerate come particolarità di struttura naturali quelle che invece sono artificialmente provocate.

Io ebbi occasione di verificare in cellule normali, nei globuli rossi del sangue della lampreda, quelle alterazioni che il Fischer aveva provocato in soluzioni artificiali di emoglobina. Come si potrà vedere da quanto ora verrò dicendo, i risultati da me ottenuti sono pressochè uguali a quelli del botanico di Lipsia.

Il sublimato corrosivo in soluzione satura coll'aggiunta di cloruro di sodio serve molto bene per la fissazione dei nuclei e della loro cromatina; ma coagula così violentemente l'emoglobina degli eritrociti che questi cambiano di forma, diventando generalmente piatti e più o meno regolarmente ellittici od ovali. Ad un'alterazione simile devesi molto probabilmente la già citata affermazione del Shipley (1), che i globuli rossi della larva di lampreda sieno ovali. La emoglobina coagulata dal sublimato appare in una massa unica e compatta, nè vi ho potuto scorgere le fini granulazioni menzionate dal Fischer.

L'acido osmico in soluzione del 2 % o dell'1 % è ottimo per fissare i leucociti e gli eritrociti. Ma in questi ultimi il nucleo si gonfia talmente sotto la sua azione e la cromatina in certo modo quasi si scioglie, chè non è più possibile con le solite successive colorazioni mettere in evidenza la sua struttura. Quanto all'emoglobina pare che in buona parte fuoresca dall'eritrocito.

L'alcool assoluto, l'acido picrico, l'acido cromico ed i sali da questo derivati agiscono press'a poco nello stesso modo, come dirò. Ad essi devonsi aggiungere quei miscugli diversi che contengono queste sostanze. Tali sono: il liquido di Perenyi, il liquido di Flemming, il liquido di Altmann, il liquido di Müller, le miscele di acido picrico e sublimato, o di sublimato, acido picrico, acido osmico ed acido acetico preconizzate recentemente dal Rabl. Tutti questi liquidi fissatori, ottimi per lo studio dei nuclei e dei leucociti, sono da evitarsi per quello dei globuli che contengono emoglobina; giacchè, coagulandola, la riducono in granuli ben distinti, che riempiono tutta la cavità della cellula e mascherano la struttura sua propria, dandogliene un'altra affatto diversa dalla normale. Essi hanno però il vantaggio di fissare rapidamente il corpo delle cellule conservandone la forma pressochè sferica, senza dar luogo a quelle deformazioni che produce il sublimato.

Le granulazioni di emoglobina che così si producono e specialmente quelle ottenute col liquido di Altmann si colorano facilmente colla fucsina acida, presentando così quel medesimo carattere che l'Altmann attribuisce ai suoi granuli.

Quanto alla colorazione feci specialmente uso dell'azzurro di metilene in soluzione satura e neutra, oppure della medesima resa alcalina coll'aggiunta di alcune goccie di ammoniaca.

La fucsina acida mi servì per conoscere meglio certi caratteri differenziali fra le varie granulazioni e le diverse sostanze esaminate.

---

(1) Shipley A. E., *On some Points in the Development of Petromyzon fluviatilis*, in " Quart. Journ. Micros. Sc. ", vol. XXVII, 1887, p. 343.

Anche l'ematossilina acida di Erlich mi diede buoni risultati specialmente per la colorazione della cromatina; ed effetti ottimi e brillanti per questo stesso scopo ottenni pure col metodo preconizzato dall'Heidenhain (1) per mettere in evidenza i centrosomi e la rete nucleare e protoplasmatica.

Tutte le osservazioni vennero fatte usando l'obbiettivo apocromatico Zeiss 1,5^{mm}, apert. 1,30 e dell'oculare 4, seguendo il buon consiglio dato dall'Heidenhain, per ottenere la massima chiarezza delle immagini, che consiste nel frapporre tra il vetrino porta-oggetti e la lente del condensatore Abbe una goccia del medesimo olio con cui si fa l'immersione.

GLI ELEMENTI CELLULARI

Tutte le cellule che si osservano nel sangue in circolazione della lampreda, si possono ripartire nel seguente modo:

1° Gli *eritroblasti* e gli *eritrociti* da essi derivati.

2° I *leucoblasti* da cui derivano:

a) i *leucociti a nucleo semplice;*

b) i *leucociti a nucleo polimorfo.*

3° Le *cellule eosinofile.*

A questi elementi cellulari sono da aggiungersi gli stadi loro di passaggio che verranno a mano a mano descritti.

Gli eritroblasti.

Che i primi momenti della vita dei globuli rossi del sangue sieno rappresentati da cellule, il cui protoplasma è incoloro, cioè affatto o quasi privo di emoglobina, fu creduto ed affermato da molto tempo. Così per esempio, per non citare che uno dei lavori più antichi su questo argomento, ricorderò quello del Moleschott (2), dove nella tavola annessa sono disegnate certe cellule incolore del sangue che quell'autore ritiene come rappresentanti i primi stadi dei globuli rossi.

Non considerando affatto le opinioni che vi sono esposte, è quasi certo, a giudicare da talune forme di quelle cellule, che l'autore vide e disegnò delle cellule corrispondenti ai moderni eritroblasti, ma sbagliò nella loro interpretazione credendole globuli bianchi del sangue.

Altrettanto fecero di poi altri autori e caddero nella medesima erronea interpretazione, donde la teoria, da parecchi per un certo tempo sostenuta, della derivazione dei globuli rossi del sangue dai corpuscoli bianchi.

---

(1) Heidenhain M., *Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma*, in " Arch. f. mikrosk. Anat. „, Bd. 43, 1894, p. 435.

(2) Moleschott J., *Ueber die Entwickelung der Blutkörperchen*, in " Muller's Arch. f. Anat. u. Physiol. „, 1853, p. 73.

Così è quasi certo che il VULPIAN (1), descrivendo nel sangue della rana quei certi leucociti a protoplasma trasparente e privi della proprietà di emettere pseudopodi, indicò pure i moderni eritroblasti; ma egli credette queste forme derivate da ordinari leucociti (2). La stessa opinione manifestò il POUCHET (3) nello studiare il sangue di Tritone, e dello stesso avviso fu pure il RENAUT (4), del quale anzi ci interessa in modo speciale il lavoro, perchè contiene alcune osservazioni sullo sviluppo dei corpuscoli rossi della lampreda marina (*Petromyzon marinus*), i quali passerebbero per le seguenti forme diverse prima di giungere allo stato adulto:

1° Corpuscolo bianco con nucleo proliferante e protoplasma non limitato da uno strato esoplasmatico;

2° Corpuscolo con nucleo proliferante, con protoplasma che forma un disco incoloro, limitato da un esoplasma;

3° Corpuscolo con nucleo proliferante, protoplasma limitato da un esoplasma e formante un disco più o meno ricco di emoglobina;

4° Corpuscolo rosso con nucleo proliferante;

5° Corpuscolo rosso circolare con nucleo circolare.

Dal che si vede, come pure il RENAUT chiaramente riferisca l'origine prima dei globuli rossi ai corpuscoli bianchi del sangue. Contro questa opinione si erano però già decisamente pronunziati l'anno precedente al lavoro del RENAUT i Dottori FOÀ e SALVIOLI (5), i quali riferirono l'origine dei corpuscoli rossi, non già a primitivi leucociti, ma a certe cellule con protoplasma ialino, che essi chiamarono *cellule ialine* e che trovarono nel fegato embrionale di vitello.

Questa scoperta veniva l'anno dopo confermata dal BIZZOZERO (6) e poco di poi dal LÖWIT (7), che volle distinguere col nome di *eritroblasti* le cellule ialine di FOÀ e SALVIOLI, nome che venne in seguito generalmente accettato.

Le ricerche del LÖWIT si estesero dal Tritone, in cui prima erano state fatte, anche ad altri vertebrati, tanto che quell'autore fu condotto a questa generale conclusione: " che nella milza dei vertebrati a sangue freddo (Salamandra e Tritone) " e nei diversi organi ematopoietici dei vertebrati a sangue caldo si trovino due " sorta di cellule distinte per la diversa struttura del loro nucleo e per il diverso

---

(1) VULPIAN, *De la régénération des globules rouges du sang chez la grenouille à la suite d'hémorrhagies considérables*, in " Compt. R. Acad. Sc. „, Paris, 1885.

(2) Devesi però notare che una parte di queste cellule descritte dal VULPIAN sono realmente eritroblasti; altre invece corrispondono, a giudicare dalla descrizione, a quelle cellule fusiformi (*Spindelzellen*) credute prima giovani globuli rossi, quindi rappresentanti delle piastrine nei vertebrati inferiori. VULPIAN le confuse insieme.

(3) POUCHET, *Note sur l'évolution du sang des ovipares*, in " Gazette médicale de Paris „, 1879, n° 26.

(4) RENAUT, *Recherches sur les éléments cellulaires du sang*, in " Arch. de Physiol. norm. et pathol. „, II série, t. VIII, 1881, p. 665.

(5) FOÀ P. e SALVIOLI G., *Sull'origine dei globuli rossi del sangue*, in " Arch. per le scienze mediche „, Torino, vol. IV, 1880, p. 13.

(6) BIZZOZERO G., *Sulla produzione dei globuli rossi del sangue nella vita estrauterina*, in " Giorn. Acad. med. Torino „, 1881.

(7) LÖWIT M., *Ueber die Bildung rother und weisser Blutkörperchen*, in " Sitzungsber d. k. Akad. d. Wissensch. Wien „, Bd. 88, 1883, III Abth., p. 378. — *Ueber Neubildung und Zerfall weisser Blutkörperchen*, in " Sitzungsber. d. k. Ak. d. Wissensch. Wien „, Bd. 92, 1885, III Abth., p. 60-61.

" modo di riprodursi, delle quali, le une (i leucoblasti) producono i corpuscoli bianchi, " le altre (gli eritroblasti) i corpuscoli rossi del sangue „.

Ben presto l'asserzione del Löwit fu dimostrata vera anche da molti altri, quali Denys (1), Kuborn (2), Sedgwick Minot (3), Howell (4), Foà (5), Dekhuyzen (6), sebbene quasi tutti negassero recisamente uno dei caratteri distintivi degli eritroblasti dai leucoblasti che il Löwit aveva creduto di poter dare sul modo di riprodursi.

Però le conclusioni, a cui vennero nei loro lavori il Löwit ed il Denys sulla natura degli eritroblasti, non furono accettate pienamente dal Bizzozero (7), il quale pur ammettendo, anzi vivamente appoggiando, quale precipuo sostenitore di questa teoria, la origine dei globuli rossi del sangue da elementi cellulari indipendenti dai leucociti, negò tuttavia che nel loro periodo giovanissimo gli eritroblasti fossero incolori, ma affermò che fin dal primo momento della loro vita autonoma i corpuscoli rossi posseggono già il protoplasma colorato dall'emoglobina. Ed egli dava ragione di quanto aveva osservato e decritto il Denys, attribuendolo al metodo usato nelle sue indagini ed alla mancanza di osservazione degli elementi freschi, appena tolti dall'animale vivente.

Per quanto, dopo le accurate e convincenti ricerche degli istologi ora nominati, alcuni, come Feuerstack (8), Aly ed Eberth (9), Müller (10), continuassero a sostenere la derivazione dei globuli rossi dai corpuscoli bianchi, tuttavia era questa opinione dai più abbandonata, quando in questi ultimissimi tempi una nota preventiva del Saxer (11) modifica notevolmente le idee che finora si avevano sull'origine degli elementi cellulari del sangue, e ritorna alla teoria della trasformazione dei corpuscoli bianchi in corpuscoli rossi del sangue.

Credo opportuno pertanto di dare di essa un breve riassunto. Secondo il Saxer dunque, la forma stipite comune dei corpuscoli bianchi e rossi del sangue sarebbero certi elementi che egli chiama *cellule migranti primitive* (primäre Wanderzellen) che comparirebbero assai precocemente negli organi dell'embrione, indipendenti e do-

---

(1) Denys J., *La structure de la moelle des os et la genèse du sang chez les oiseaux, in* " La Cellule „, T. IV, 1837.

(2) Kuborn P., *Du développement des vaisseaux et du sang dans le foie de l'embryon,* in " Anat. Anz. „, vol. V, 1890, p. 277.

(3) Sedgwick Minot, *Zur Morphologie der Blutkörperchen,* in " Anat. Anz. „, vol. V, 1890, p. 601.

(4) Howel W. H., *The Life-History of the Formed Elements of the Blood, especially the red Blood corpuscles,* in " Journ. of Physiol „, vol. IV, Boston, 1891, p. 57-116.

(5) Foà P., *Neue Untersuchungen über die Bildung der Elemente des Blutes,* in " Intern. Beitr. zur wissensch. Medicin „, Bd. I, 1891.

(6) Dekhuyzen C., *Ueber das Blut der Amphibien,* in " Verh. d. anatom. Gesellsch. „, 1892, p. 90.

(7) Bizzozero G., *Nuove ricerche sulla struttura del midollo delle ossa negli uccelli,* " Atti R. Acc. scien. Torino „, vol. XXV, 1889-90, p. 156.

(8) Feuerstak W., *Die Entwicklung der rothen Blutkörperchen,* in " Zeitsch. f. wissens. Zool. „, Bd. 38, 1883, p. 136.

(9) Aly et Eberth, *Ueber die Vermehrung der rothen Blutkörperchen,* in " Fortsch. d. Med. „, Bd. III, 1885.

(10) Müller H. F., *Zur Frage der Blutbildung,* in " Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien „, Bd. 98. 1889, III Abth., p. 219.

(11) Saxer F., *Ueber die Entstehung weisser und roter Blutkörperchen,* in " Anat. Anz. „, Bd. XI, n° 11, 1895, p. 355.

tate di locomozione. Esse sarebbero affatto diverse dagli elementi del tessuto connettivo, anzi rappresenterebbero una speciale sorta di cellule.

Da queste primitive cellule migranti deriverebbero: 1° le cellule giganti plurinucleate; 2° per mitosi, certe cellule di diversa grandezza con nucleo semplice e scarso protoplasma che egli indica col nome di cellule di transizione di 1°, 2° e 3° ordine. Anche queste cellule sarebbero, in certi stadi, dotate di locomozione e darebbero origine colla loro migrazione nei tessuti a certe forme le quali corrisponderebbero affatto a quelle dei futuri leucociti migranti.

Tutti questi elementi formerebbero nei loro primi stadi di sviluppo esclusivamente corpuscoli rossi del sangue: col cominciare della loro trasformazione in questi ultimi, trasformazione che avverrebbe nelle cellule di transizione di 2° e 3° ordine (eritroblasti) col colorarsi del corpo cellulare ialino per mezzo dell'emoglobina, col diventare il nucleo più fortemente granuloso e colla persistenza della divisione mitotica, parrebbe scomparire la loro motilità.

Come già dissi, non volendo in questo mio lavoro trattare dell'origine degli elementi del sangue, ma solo della loro struttura e presenza nel sangue in circolazione, non entro qui nel merito delle idee esposte dal Saxer, nè riassumo il resto della sua nota, tenendomi pago di aver riferito quello che più ci interessa direttamente.

Risulta chiaro insomma che, secondo quest'autore, i leucociti ed i corpuscoli rossi del sangue avrebbero un comune punto di partenza del loro sviluppo in una cellula dotata di locomozione. Il Saxer non si spiega oltre sul significato di questa parola; ma io credo che voglia alludere alla proprietà del protoplasma di emettere pseudopodi.

Nelle ricerche degli autori precitati gli eritroblasti erano stati ritrovati nei vari organi ematopoietici; ma più tardi il Löwit (1) ne dimostrò la presenza in proporzioni varie nel sangue circolante nei diversi vasi di mammiferi, e Dekhuyzen (2) nel sangue della rana.

Anch'io nel sangue circolante della lampreda, preso nel modo che sopra ho detto, ho sempre riscontrato degli eritroblasti, ma in ogni caso sempre così ben distinti dai leucoblasti per caratteri che dirò, da non essere possibile alcuna confusione con essi. È tuttavia preferibile, per essere certi di incontrare degli eritroblasti, di togliere sangue da una larva giovane e piccola di lampreda e perciò in via di accrescimento piuttosto che da una larva in cui questo sia cessato.

In una goccia di sangue osservata a fresco, con buona luce e conveniente diaframma, fra i numerosissimi eritrociti, distinti per il loro colore giallo pallido dato dall'emoglobina ed i molti leucociti colle loro caratteristiche granulazioni, si vedono pure parecchi altri elementi che spiccano precipuamente per la rifrangenza del loro

---

(1) Löwit M., *Die Umwandlung der Erythroblasten in rothe Blutkörperchen*, in " Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien ", Bd. 95, 1887, III Abth., p. 129.

(2) Dekhuyzen, *Ueber das Blut der Amphibien*, loc. cit.

nucleo. Taluni di questi nuclei appartengono ai leucoblasti o alle cellule da essi derivate e di cui parleremo in seguito; altri invece sono quelli degli eritroblasti.

L'osservazione degli elementi freschi del sangue, senza alcuna precedente preparazione o fissazione, ho trovato in questo caso come sempre, quando è possibile, di una grande utilità, perchè mi ha permesso di vedere negli eritroblasti e negli eritrociti delle particolarità che mi sarebbero altrimenti sfuggite o che non avrei saputo interpretare giustamente, o che pure si sarebbero potuto credere prodotte dall'azione dei reagenti sopra di essi.

I nuclei degli eritroblasti, che, colorati convenientemente, si distinguono subito per la diversa struttura da quelli dei leucoblasti, non si riconoscono così facilmente nel sangue fresco, perchè non è possibile scorgerne la rete di cromatina. Ma, se si osserva attentamente, si potranno riconoscere per un contorno netto ma tenuissimo di forma varia che gira intorno ad essi ad una certa distanza; contorno che limita il protoplasma in cui i nuclei stanno ravvolti (fig. 1).

È molto probabile che il Wagner (1), senza riconoscerne la natura, abbia osservato precisamente questi nuclei; giacchè parla di nuclei molto rifrangenti la luce, e più piccoli dei corpuscoli bianchi.

Il protoplasma degli eritroblasti, osservato in quelli più giovani che si possono incontrare nel sangue circolante, è trasparentissimo, omogeneo ed incoloro.

Sebbene una distinta membrana cuticolare non si possa dimostrare in questo suo periodo di vita, mentre il Denys (2) la dice robusta (*forte*), è però certo che alla sua periferia il protoplasma presenta uno strato sottilissimo, quello che il Renaut chiamò esoplasma, il quale funziona realmente come una membrana. Essa è la membrana protoplasmatica (fig. 6-10).

Gli autori che descrissero gli eritroblasti non sono d'accordo sulla loro proprietà di compiere movimenti ameboidi. Taluni la negano come Löwit, Vulpian, perchè non li videro mai emettere pseudopodi; altri come Denys, Renaut, Dekhuyzen affermarono di aver osservato in essi degli pseudopodi. Di questi ultimi, se non tutti, certo taluni scambiarono i leucoblasti cogli eritroblasti, donde la loro asserzione. Così è quasi certo che il Dekhuyzen (3) fece un simile scambio, quando figura nella tavola annessa al suo lavoro certi eritroblasti che, a giudicare dalla forma del nucleo sono piuttosto da ritenersi come leucoblasti. I primi poi ebbero torto a negare ogni movimento agli eritroblasti, solo perchè non posseggono pseudopodi. Dalle mie ricerche ho potuto di fatto notare: che, sebbene gli eritroblasti non emettano mai veri pseudopodi, posseggono tuttavia una certa motilità.

La mancanza di pseudopodi non esclude in una cellula ogni proprietà di movimento. Gli eritroblasti ce ne porgono un esempio. Indipendentemente da ogni cambiamento di forma portato al suo corpo da una causa esterna, è facile osservare su eritroblasti viventi che il loro protoplasma gode di una certa contrattilità, la quale

---

(1) Wagner R., *Neue Beobachtung.*, ecc., in " Isis ", T. XXVI, 1833, p. 1013.
(2) Denys, *La structure de la moelle*, ecc., loc. cit., p. 224.
(3) Dekhuyzen, *Ueber das Blut d. Amphibien*, in " Verh. d. Anat. Gesellsch. ", 1892.

si manifesta con un continuo cambiamento del contorno. Circolare in certi momenti, diventa sovente ellittico, ovale, a mo' di lacrima, o assume anche forme più irregolari come nelle figure 1-10 ho rappresentato.

Simili alterazioni di forma aveva già osservato il Löwit (1), ma volle attribuirle all'aderenza della cellula col vetrino porta-oggetti con filamenti di fibrina. Questa supposizione però non trovai sufficiente per spiegare tutti i fenomeni che vidi.

A questi cambiamenti nella forma segue anche un movimento lento di progressione sul vetrino porta-oggetti, ed il nucleo vien trascinato anch'esso dalla massa protoplasmatica che lo ravvolge.

Ad onor del vero giova notare che già il Denys (2) disse di aver osservato dei movimenti ameboidi negli eritroblasti del coniglio, col susseguente spostamento del nucleo, ma dal contesto del suo discorso pare che egli alluda alla emissione di reali pseudopodi, e perciò di un moto ben diverso da quello che ora ho descritto.

La mancanza di veri pseudopodi, quali si osservano nei leucoblasti e nei leucociti è dovuta alla presenza della membrana protoplasmatica: la quale, se è tale per la sua tenuità, da non dare alla cellula una forma determinata ed immutabile, è però sufficiente ad impedire che da essa possano uscire all'esterno quei piccoli lobi protoplasmatici che formano i caratteristici pseudopodi.

Del resto, trattandosi di un argomento così delicato, io non oso negare recisamente che in un periodo più remoto della loro vita gli eritroblasti emettano pseudopodi: mi limito ad asserire solamente che non li ho mai visti nei numerosissimi eritroblasti che osservai nel sangue circolante della lampreda, ed a manifestare il mio dubbio che non sieno realmente eritroblasti quelli a cui si attribuirono.

La presenza della membrana protoplasmatica trae con sè come necessaria conseguenza, un altro dei caratteri citati dal Löwit (3) e generalmente accettato come distintivo degli eritroblasti: voglio dire della mancanza nel loro protoplasma di frammenti di emoglobina e di granuli di pigmento. Il che ho anch'io sempre notato.

Quale sia poi la struttura intima di questo protoplasma, non è certamente cosa facile il dire, tanto più per elementi così piccoli e così delicati. Tuttavia io dirò quello che credo in proposito e che ho potuto arguire dalle mie osservazioni.

Dissi dunque che il protoplasma fresco degli eritroblasti è assolutamente ialino, incoloro, omogeneo, almeno nello stadio di vita in cui finora lo descrissi. Vi aggiungerò ancora che, paragonato con quello dei leucociti e dei leucoblasti, mostra una fluidità notevolmente maggiore.

Ma se gli eritroblasti si fissano col calore e si colorano coll'azzurro di metilene, allora esso ci appare con un aspetto che ora descriverò.

Il vero protoplasma della cellula, quello che io indicherò più propriamente col nome di citoplasma, si mostra colorato in azzurro Prussia e relativamente scarso in confronto col volume dell'eritroblasto. Esso è disposto in un sottile strato intorno al

---

(1) Löwit, *Ueber Neubildung*, ecc., in " Sitzungsb. k. Ak. Wien ", 1885, III Abth, p. 69.

(2) Denys, loc. cit., p. 223.

(3) Löwit, *Ueber Neubildung und Zerfall*, ecc. in " Sitzungsber. d. k. Ak. d. Wissensch. Wien ", 1885, III Abth., p. 70.

nucleo e di qui si distribuisce in sottilissimi filamenti raggianti fino alla periferia, dove questi si riuniscono insieme in uno straterello periferico continuo, il cui margine esterno forma quella che dissi la membrana protoplasmatica.

Ma ciò che caratterizza di più ancora questo citoplasma e ce lo fa distinguere a primo colpo d'occhio da quello dei leucoblasti e dei leucociti è la sua struttura granulare. Tanto lo strato intorno al nucleo, quanto lo strato periferico, quanto ancora e specialmente i filamenti raggianti, non sono già compatti e continui, ma appaiono formati dall'agglomerazione di numerosissimi granuli di una straordinaria minutezza, più fitti nello strato periferico e perciò quivi meno distinti (fig. 6-10).

Coll'invecchiare dell'eritroblasto non pare che la quantità di citoplasma aumenti, sebbene cresca di volume il corpo dell'eritroblasto stesso. Ma quando si osservano eritroblasti in un periodo vitale più avanzato di quello ora descritto e di dimensioni maggiori, oltre ad altri caratteri che più oltre dirò, si nota che i filamenti raggianti sono più o meno spostati e allontanati l'uno dall'altro in modo irregolare, lasciando fra di loro degli spazi liberi, che paiono grandi vacuoli, privi tuttavia di membrana, e più o meno liberamente comunicanti fra di loro tra i filamenti citoplasmatici (fig. 6-10). Appare insomma evidente che il maggior volume acquistato dal corpo dell'eritroblasto non è già dovuto all'aumentare del citoplasma, ma piuttosto ad una sostanza che si accumula fra il citoplasma stesso e in certo modo lo infiltra e lo diluisce.

Fissando, come dissi, col calore gli elementi sanguigni, la sostanza che sta così tra il citoplasma si evapora e scompare e lascia libere le cavità che occupava.

Che cosa è questa sostanza? Emoglobina? Io non credo. Se così fosse essa dovrebbe dare un color giallo all'eritroblasto, e questo ci apparirebbe, sia pure molto debolmente. In secondo luogo, essendo l'emoglobina un albuminoide, sotto l'azione del calore dovrebbe coagularsi e apparire tuttavia coagulata nell'eritroblasto. Ora, nulla di tutto ciò, come già dissi.

Io sto piuttosto per credere che questa sostanza sia, o acqua puramente, o un liquido che si avvicini molto ad essa, e che si potrebbe indicare col nome vago di succo cellulare. In ogni caso il non coagularsi di essa esclude che si tratti di un albuminoide.

Dall'insieme di queste osservazioni io sono pertanto tratto a questa supposizione sulla struttura del protoplasma dell'eritroblasto. Esso sarebbe dapprima costituito da una massa di citoplasma, ricco di acqua. Questa infiltrerebbe intimamente tutto il citoplasma e, in certo modo, penetrando tra le particelle elementari di esso lo diluirebbe e gli darebbe quella notevole fluidità che ho già detto essere uno dei suoi caratteri precipui.

Quest'acqua corrisponderebbe insomma a quella che nella sua teoria micellare il Naegeli chiamò acqua di capillarità.

Col progredire nello sviluppo l'eritroblasto aumenterebbe così di volume, non già per l'aumentare della massa del citoplasma, ma per una continua imbibizione di acqua, la quale a poco a poco, spostando sempre più i filamenti citoplasmatici, si accumulerebbe così in maggior quantità negli spazi da questi lasciati col loro divaricarsi.

Naturalmente, ciò avvenendo, la fluidità del protoplasma dell'eritroblasto au-

menta sempre più, mentre esso si mantiene pur sempre incoloro e trasparente, ed il nucleo stesso rimane collegato dai filamenti citoplasmatici alla membrana che nel frattempo si va consolidando. Tuttavia la fluidità stessa del protoplasma e la contrattilità dei filamenti — ch'io ammetto che persista sempre, sebbene attenuata — dànno al nucleo, come vedremo, una certa mobilità nell'interno della cellula.

Come già Löwit, Denys dimostrarono per altri animali, così anche nella Lampreda il nucleo degli eritroblasti si distingue da quello dei leucoblasti con una facilità somma, tanto che, se anche mancasse il protoplasma, non sarebbe possibile la loro confusione.

I nuclei degli eritroblasti giovani sono perfettamente sferici, ricchi di granuli di cromatina, prevalentemente circolari, insieme congiunti da numerosi filamenti cromatinici in modo da costituire una rete discretamente fitta. Questa disposizione risulta chiara e spiccata colla colorazione al bleu di metilene dopo fissazione col calore, e sarebbe di per se stessa già sufficiente a non permettere confusione alcuna coi leucoblasti, dove la cromatina è accumulata in masse proporzionalmente più grandi, ma più rara e coll'apparenza di grandi nucleoli.

Del resto, a quanto pare, la cromatina stessa degli eritroblasti non deve essere perfettamente uguale, in composizione chimica, a quella dei leucoblasti; almeno per quanto se ne può arguire dalla colorazione che subisce. Di fatto la cromatina di quelli si colora col bleu di metilene di un color azzurro più puro e più intenso di quella dei leucoblasti: il bleu di metilene si fissa su di essa senza subire alcuna alterazione nel tono del colore. Se poi si tratta con la fucsina acida, la cromatina dei leucoblasti si colora leggermente, ma nettamente, in roseo, quella invece degli eritroblasti non si colora affatto.

Ma vi si aggiunge ancora un'altra proprietà del nucleo che colla colorazione suddetta spicca distintamente. Ed è che il nucleo dei leucoblasti si colora sempre più intensamente che non quello degli eritroblasti. Ciò proviene dal fatto, che il succo nucleare dei primi (chiamo in questo caso col nome generale di succo nucleare tutto il contenuto del nucleo nel quale sta immersa la cromatina) si colora anch'esso assai intensamente, specialmente poi quando il leucoblasto è molto giovane e perciò il nucleo è ancora assai piccolo. Invece il succo nucleare degli eritroblasti si colora nelle stesse condizioni assai scarsamente e ne segue che esso appare più chiaro e perciò la rete ed i granuli di cromatina più distinti e spiccati.

Il nucleo degli eritroblasti possiede una membrana ben distinta, sulla quale si accumulano le granulazioni di cromatina. Esso non possiede però alcun nucleolo nel vero significato della parola, sebbene qualche volta alcune granulazioni di cromatina più grandi delle altre possano assumerne l'aspetto, formando così degli pseudonucleoli.

Come già prima accennai, negli eritroblasti viventi, il nucleo, pur non essendo libero nell'interno della cellula, ma legato dai filamenti citoplasmatici alla membrana, tuttavia gode in essa di una certa mobilità, così che vi si muove lentamente trascinato dai filamenti colle loro contrazioni. Nelle condizioni normali il nucleo occupa quasi il centro della cellula, ma in altri casi si sposta più o meno verso la sua periferia.

Avviene frequentemente nell'osservare preparati di sangue di lampreda di trovarvi dei nuclei che si riconoscono subito appartenere ad eritroblasti, sia per la

struttura del citoplasma che li circonda, sia per quella loro propria ora descritta; ma essi sono visibilmente più grandi e assumono allora la forma ovale. Io credo che si tratti in questo caso di nuclei più vecchi, i quali sieno cresciuti di volume per avvenuta nutrizione (fig. 8).

Nella enumerazione dei caratteri distintivi tra gli eritroblasti ed i leucoblasti il Löwit aveva affermato e sostenuto che nei primi il nucleo si divide per mitosi, mentre nei secondi la divisione è diretta. Ma questo carattere non fu accettato dai più ed i lavori di Flemming (1), Denys (2) e Müller (3), per non citarne che alcuni, dimostrarono che la divisione per mitosi ha luogo tanto negli uni quanto negli altri nuclei.

Nel caso presente il carattere della divisione non può nemmeno essere invocato come distintivo: non già perchè, come dimostrarono per altri animali gli autori suddetti, essa si faccia in ambedue le specie di elementi per mitosi, sì bene perchè in ambedue è diretta. In tutte le numerosissime osservazioni che io feci del sangue di lampreda, in tutte le migliaia di elementi che mi passarono sott'occhio non mi venne dato di osservare un solo caso di mitosi.

Casi evidenti di divisione diretta dal nucleo degli eritoblasti io non trovai in verità che molto raramente. Per ciò io son per credere che la divisione loro nel sangue circolante non sia un fatto normale. Tentai, è vero, di provocarla artificialmente, togliendo sangue all'animale: ma non ebbe l'operazione esito felice, perchè, essendo questi animali delicati, morivano generalmente dopo il salasso.

Ritenni tuttavia come fenomeni di divisione diretta dei nuclei, quelle forme che ho rappresentato nelle fig. 9-10.

Basta dare uno sguardo a queste figure e confrontarle con quelle corrispondenti dei leucoblasti per vedere come, pur essendo ambedue diretti, tuttavia i due modi di divisione si distinguono nettamente. Di fatto, mentre nei leucoblasti il nucleo si prepara alla divisione allungandosi, quindi curvandosi per strozzarsi in due frammenti, negli eritroblasti la divisione avviene senza alcuna modificazione nella forma del nucleo, o tutt'al più questo, aumentando di volume, si fa ovale. Quindi la membrana si insinua per invaginazione dentro al succo nucleare spostando i granuli di cromatina o fors'anche dividendoli e si forma così una fessura stretta che a poco a poco va estendendosi a tutto il nucleo nella direzione del suo diametro, finchè lo divide in due parti uguali. I due nuclei figli risultanti si trovano pertanto, quando la divisione è compiuta, così avvicinati l'uno all'altro come nella fig. 10 è rappresentato, da parere che il nucleo primitivo sia stato tagliato in due con una lama.

Divisioni simili, sebbene rare, non ho mai trovato tuttavia che negli eritroblasti.

---

(1) Flemming, *Studien über Regeneration der Gewebe*, in " Arch. f. mikrosk. Anat. „, Bd. 24, 1885.
(2) Denys, *La structure de la moelle*, ecc., loc. cit.
(3) Müller H. F., *Zur Frage der Blutbildung*., loc. cit.

I granuli emoglobigeni.

Così descritti il protoplasma ed il nucleo dell'eritroblasto voglio ora richiamare l'attenzione su certi granuli, che da parecchi autori furono incidentalmente solo accennati, senza che vi ammettessero alcuna importanza, mentre io attribuisco loro una funzione capitale nella cellula.

Citerò qui coloro che più o meno chiaramente fecero allusione a tali granuli.

Vulpian (1) dopo aver descritto gli eritroblasti, aggiunge: " Au voisinage du " noyau la substance de la cellule est un peu granuleuse „ (2).

Denys (3) nell'enumerazione dei caratteri differenziali tra gli eritroblasti ed i leucoblasti accenna appena a questi granuli con queste parole: " protoplasme (des érythroblastes) homogène ou à peine granulé „.

Il Prof. A. Mosso (4) descrisse pure minutamente la formazione di numerosi granuli nei corpuscoli rossi delle rane, dei tritoni e delle tartarughe, dovuta alla loro degenerazione.

Anche il Foà (5), usando vari metodi, riuscì a mettere in evidenza dei granuli in molti corpuscoli rossi di mammiferi, forse però alterati.

Che i granuli di cui intendo ora parlare sieno della stessa natura di quelli osservati dal Mosso io non oserei affermare. Ritengo però quasi per certo che essi corrispondano alle granulazioni indicate dal Vulpian e dal Denys e fors'anche a quelle dimostrate dal Foà.

Nel 1889 il Cuénot (6) in un lavoro generale sul sangue richiamò l'attenzione su certi granuli che si osservano nelle giovani emazie dei vertebrati e che sono dotati di vivaci movimenti browniani. Egli li trovò negli eritroblasti di tutti i vertebrati inferiori, dai pesci agli uccelli, li credette derivati dal nucleo e così si esprime sulla loro funzione: " Pour moi, il est évident que les granules browniens " (qui ne sont au fond que des parties du noyau) jouent un rôle actif dans la pro- " duction de l'hémoglobine: mais, de là, à descendre plus intimement dans l'étude " du phénomène, il y a encore beaucoup de chemin à faire „.

Da quell'anno in poi nè quell'autore, nè altri ripresero la questione, e l'ipotesi del Cuénot rimase quasi sconosciuta e non fu perciò nè combattuta nè sostenuta.

---

(1) Vulpian A., *De la régénération des globules du sang*, ecc., in " C. R. Acad. Sc. Paris „, t. 84, 1877, p. 1282.

(2) Devo qui notare che i vacuoli descritti dal Ranvier nel suo trattato di istologia, vacuoli che si producono nei globuli rossi della rana in alterazione, non hanno nulla a che fare coi granuli di cui ora dirò.

(3) Denys, *La structure de la moelle des os*, ecc., loc. cit., p. 224.

(4) Mosso A., *Degenerazione dei corpuscoli rossi nelle rane, nei tritoni e nelle tartarughe*, in " Atti R. Acc. Lincei, Rendiconti „, Serie IV, vol. III, 1887, p. 124.

(5) Foà P., *Beiträge zum Studium der structur der rothen Blutkörperchen der Säugethiere*, in " Beiträge zur pathol. Anat. und zur allgem. Pathol. v. Ziegler „, Bd. V, Jena, 1889, p. 255-263, tab. VIII.

(6) Cuénot L., *Étude sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale*, in " Arch. de Zool. expér. et génér. „, II sér., T. VII, 1889, p. 26.

Ma l'avere io negli eritroblasti della lampreda osservato dei granuli che certamente sono quei medesimi menzionati dal Cuénot, e l'avere questi granuli pure riscontrato negli eritrociti adulti, mi portò naturalmente a considerare la loro natura e la loro funzione.

Quando io scrissi i risultati delle mie osservazioni, le mie idee, e le ipotesi che si troveranno qui esposte, non conosceva assolutamente altro che dal titolo il lavoro suddetto del Cuénot, e fui perciò molto meravigliato quando, nel prendere conoscenza perfetta della letteratura dell'argomento, trovai che le mie opinioni collimavano per una strana coincidenza quasi perfettamente con quelle di Cuénot, al quale ne spetta pertanto la priorità.

Per ben vedere queste granulazioni conviene esaminare il sangue fresco. Pochi sono gli eritroblasti che ne manchino e questi presentano la struttura che finora ho descritto. Ma nella massima parte di essi è facile discernere uno o più granuli brillanti, generalmente non maggiori di un mezzo μ, e dotati di un vivace movimento di vibrazione, simile ad un movimento browniano.

A tutta prima potrebbersi questi granuli, e pel loro movimento, e per l'aspetto scambiarsi per micrococchi. Ma tali non sono da ritenersi, sia per la costanza con cui si trovano in tutti gli eritroblasti e gli eritrociti, sia ancora e più specialmente perchè non si colorano nel modo caratteristico di quelli coi colori di anilina.

La denominazione di granuli potrebbe a tutta prima indurre a credere che essi sieno formati di una sostanza solida. Tali appaiono difatto a tutta prima. Ma dal modo loro di comportarsi, dalla proprietà di fondersi insieme facilmente se due di essi vengono strettamente a contatto fra loro, sembra piuttosto che sieno costituiti da una sostanza liquida, la quale, insolubile nel citoplasma, si mantiene in esso come una gocciolina di olio sospesa in acqua. Ciò spiega anche la loro forma sferica costante. Questa sostanza è forse un albuminoide, perchè si coagula come gli albuminoidi col calore e cogli altri coagulanti del protoplasma.

La prima comparsa di queste granulazioni si ha in prossimità del nucleo, anzi così vicino, che pare che queste aderiscano quasi con esso (fig. 2). Ben presto però si fanno libere ed allora incominciano i loro movimenti vibratori. Però, come se una forza quasi le tenesse legate al nucleo, esse dapprima non si allontanano da quello che di brevissimi tratti. I loro movimenti oscillatori consistono nell'avvicinarsi al nucleo fino a battere contro la sua membrana e nel successivo allontanarsene. È uno spettacolo curioso allora, quando questi granuli sono già sette od otto, il vederli muoversi vivamente attorno al nucleo, proprio come farfalle intorno ad una fiamma.

Il Cuénot descrisse pure questi movimenti negli eritroblasti di Tritone ed aggiunge di aver visto il nucleo stesso spostarsi sotto l'impulso di questi piccoli granuli; ogni volta che l'uno di essi lo urtava girava intorno a se stesso in modo molto sensibile al microscopio. Altrettanto ho pure visto avvenire negli eritroblasti della lampreda.

Poi incominciano taluni granuli — e forse i primi formatisi — ad allontanarsi lentamente, ma sempre oscillando, dal nucleo e avvicinarsi alla periferia della cellula e, mentre altri se ne formano come i primi, continua per dir così la migrazione dei più vecchi verso il margine della cellula. Così che invecchiando l'eritroblasto, si accrescono in numero i granuli e si ha per così dise un modo per giudicare dell'età sua (fig. 2-9).

Nel frattempo l'eritroblasto si colora lentamente in giallo per l'emoglobina che si va formando ed, in seguito ad altre modificazioni che dirò, l'eritroblasto si trasforma nell'eritrocito, ricco di emoglobina e di granuli.

Se poi col calore o coll'acido osmico si fissano gli elementi del sangue, allora si potrà facilmente scorgere che questi granuli non sono liberi di se stessi, ma stanno legati dai filamenti citoplasmatici. Il Cuénot (1), dall'osservazione dei movimenti browniani di questi granuli, dedusse che il contenuto della emazia deve essere assolutamente liquido, senza di che essi non vi si potrebbero muovere liberamente. Questa conclusione è un po' arrischiata ed assoluta. L'autore suddetto non ha fatto osservazioni su preparati colorati, dove avrebbe potuto notare i filamenti citoplasmatici. Egli avrebbe pure potuto notare che sebbene i movimenti dei granuli sieno vivacissimi, tuttavia si compiono in limiti ristretti, non come avviene di corpicciuoli che sieno perfettamente liberi in un liquido. E, se questi granuli vanno dalla periferia della cellula al nucleo e viceversa, è facile però osservare che questo trasporto non si fa d'un tratto ma lentamente. D'altronde la tenuità dei filamenti citoplasmatici non può impedire a questi granuli di muoversi oscillando, nè di spostarsi lungo essi stessi a poco a poco.

Tali granuli si colorano scarsamente coi colori di anilina sieno basici o sieno acidi: con una soluzione satura neutra di azzurro di metilene rimangono quasi incolori; con una soluzione satura di fucsina acida si colorano debolmente in roseo; si colorano invece leggermente in azzurro se si usa una soluzione satura di azzurro di metilene, resa alcalina coll'aggiunta di alcune goccie di ammoniaca. In questo caso è d'uopo lavare il preparato, non già con acqua comune, nè tanto meno con alcool che porterebbero via la colorazione, ma con acqua resa pure alcalina con ammoniaca ed osservare al microscopio in questa stessa acqua.

Anche col metodo di Heidenhain (2) (solfato doppio di ammonio e di ferro come mordente — ematossilina pura sciolta in acqua, come colorante — il medesimo solfato doppio di ammonio e di ferro come decolorante) essi si colorano in nero: ma perdono questa colorazione assai facilmente.

Sono questi granuli costanti in tutti gli eritroblasti e in tutti gli eritrociti?

Qual'è la loro origine e la loro natura?

Quale la loro funzione?

Alla prima di queste domande è facile rispondere affermativamente osservando qualsiasi preparato di sangue di lampreda. Se si escludono quegli eritroblasti, i quali, essendo troppo giovani, ancora non li contengono, in tutti gli altri elementi della serie emoglobinica del sangue si distinguono nettamente. Dirò anzi che questo può considerarsi come un carattere infallibile per riconoscere in un preparato di sangue fresco gli eritroblasti. Nessuna delle altre cellule, sebbene granulose, presenta granuli dotati di movimenti vivaci come quelli degli eritroblasti e degli eritrociti.

Ho voluto pure esaminare se nel sangue di rana si osservasse un qualche cosa di simile. E notai precisamente la stessa cosa. Anche in esso gli eritroblasti pre-

---

(1) Cuènot L., *Étude sur le sang*, ecc., loc. cit,, p. 26.

(2) Heidenhain M., *Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen*, ecc. in " Arch. f. mikrosk. Anat. ", Bd. 43, 1894, p. 435.

sentano granuli in movimento vibratorio vivace dello stesso aspetto e probabilmente della stessa natura di quelli della lampreda, ma alquanto maggiori. Essi scompaiono però totalmente nell'eritrocito adulto.

Io non ho fatto ricerche per questo scopo sul sangue di altri vertebrati, perchè mi riservo di ritornare più tardi su questo argomento; ma dalle mie osservazioni, da quelle del Cuénot (1) sui pesci, sul Tritone e sugli uccelli e dalle parole sopra citate di altri osservatori che alludono abbastanza chiaramente a granulazioni simili io credo di non esagerare affermando che tali granuli si trovano costantemente in tutti gli eritroblasti dei vertebrati.

Alla seconda e terza domanda non è più così facile certamente il rispondere. Tuttavia io esporrò quanto dalle mie ricerche son condotto a credere.

Per quanto riguarda la loro origine un dilemma si pone: o essi derivano dal protoplasma o dal nucleo. Negare in modo assoluto la prima di queste supposizioni io non oso certamente. Tuttavia, se si pone mente che la prima comparsa di questi granuli avviene sempre intorno al nucleo, si è condotti ad ammettere che, se essi derivano da trasformazione del protoplasma, il nucleo deve almeno esercitare un'azione importante sulla loro formazione.

Ma io propendo più per la seconda supposizione. Io credo che la produzione di questi granuli sia dovuta esclusivamente al nucleo e sia anzi una parte del suo contenuto che entri nella loro costituzione. Questo avverrebbe per la fuoruscita di quella sostanza che indicai col nome generale di succo nucleare, sostanza che, come dissi, si colora scarsamente e nella quale sta la cromatina. Il succo nucleare trasuderebbe dunque in certo modo attraverso alla membrana del nucleo stesso e formerebbe i granuli.

Un fatto degno di nota e importante e che corrobora questa mia ipotesi si è che, durante l'evoluzione dell'eritroblasto in eritrocito, all'aumentare dei granuli nell'interno della cellula corrisponde il diminuire di volume del nucleo, il quale a poco a poco si appiattisce e, da sferico od ovoideo che era, diventa discoide nell'eritrocito.

La coincidenza delle opinioni mie con quelle del Cuénot è notevole anche in questo punto. Quest'autore difatto a pag. 70 del suddetto lavoro, ritiene pur egli che i granuli derivino dal nucleo e ne adduce le medesime prove che ora ho esposto.

Resta ora a vedere se il succo nucleare cambia di natura trasformandosi nei granuli. Anche tale quesito è difficilissimo a risolversi, mancando pur troppo alla microscopia il sussidio della chimica. Tuttavia io noterò che, come i granuli, anche il succo nucleare si colora scarsamente con una soluzione satura neutra di bleu di metilene (e questo ho già menzionato come uno dei caratteri differenziali tra il succo nucleare degli eritroblasti e quello dei leucoblasti): che si colora leggermente in roseo con una soluzione satura di fucsina acida, e si colora in azzurro con una soluzione satura di bleu di metilene, resa alcalina con ammoniaca e osservata nel modo sopra esposto. Si nota insomma che il succo nucleare degli eritroblasti ed i loro granuli hanno per i colori di anilina press'a poco la stessa predilezione.

---

(1) Cuénot L., *Étude sur le sang*, ecc., loc. cit., p. 26, 75 e 76.

Certamente da questa sola proprietà non si può concludere che sia la stessa la loro composizione chimica, ma possiamo arguire che, se non è la stessa, sia per lo meno affine.

Qual'è la loro funzione?

La costanza con cui questi granuli si incontrano in tutti gli eritroblasti ci può già far prevedere che la loro funzione dev'essere di un'alta importanza. Quale può essere questa per un eritroblasto se non la formazione della emoglobina?

L'eritroblasto giovanissimo non possiede granuli di sorta ed il suo protoplasma è ialino ed incoloro come fu descritto; esso non contiene assolutamente emoglobina. Solo dopo che quelli si sono formati ed hanno raggiunto un numero discreto incomincia a comparire questa per una progressiva colorazione gialla della cellula.

Questi granuli, a mio avviso, non sarebbero altro che leuciti o plastidi, come se ne conoscono di natura diversa, specialmente nelle cellule vegetali. Leuciti, la cui funzione importantissima consisterebbe precisamente nella produzione dell'emoglobina, e che chiamo perciò *granuli* o *leuciti emoglobigeni.*

La sostanza che darebbe origine all'emoglobina starebbe sciolta nel plasma sanguigno sotto natura e composizione diversa. I granuli emoglobigeni avrebbero la proprietà di prendere dal plasma questa sostanza ignota e trasformarla in emoglobina (1).

L'emoglobina poi, composto albuminoide ben definito e cristallizzabile, a mano a mano che si produrrebbe si scioglierebbe in quell'acqua o in quel succo cellulare che, ho detto, imbibisce il citoplasma dell'eritroblasto. Si avrebbe insomma un fenomeno consimile a quello della formazione dell'amido nei vegetali per opera degli amiloleuciti: colla differenza che mentre questi producono una sostanza che rimane solida e forse cristallizzata, l'emoglobina appena formata si scioglierebbe subito, ed occuperebbe gli spazi interplasmatici della cellula.

Per quelle proprietà osmotiche poi della membrana cellulare che Pfeffer e de Vries dimostrarono in modo così chiaro, l'emoglobina, nelle condizioni normali, non può diffluire attraverso alla membrana dell'eritrocito e rimane pertanto, una volta formatasi, sempre rinchiusa in esso. Solo ne esce, quando, per le cambiate condizioni, si rompe quell'equilibrio che deve esistere tra il succo cellulare o l'acqua in cui sta disciolta l'emoglobina ed il liquido ambiente; il che avviene per esempio quando il sangue venga esposto all'aria.

Come effetto palese di questo invisibile ed incessante scambio molecolare tra il plasma del sangue, i leuciti emoglobigeni ed il succo cellulare od acqua interplasmatica, si hanno quei movimenti oscillanti o browniani dei granuli che ho descritto sopra e che sono così caratteristici.

Il Cuénot così si esprime a proposito della funzione emoglobigena di tali granuli: " On sait que l'hémoglobine résulte de la combinaison d'un albuminoïde (96/100) " avec l'hématine, pigment qui contient tout le fer. Les granules sont-ils les agents

(1) Qui si può opporre alla mia ipotesi che negli eritrociti degli altri vertebrati i granuli mancano nelle condizioni normali, come il Cuénot ed io stesso abbiamo notato. Risponderò a questa obbiezione in un altro lavoro su questo argomento.

" de la combinaison de l'albuminoïde et du pigment, ou se combinent-ils eux-mêmes " à l'albuminoïde du sérum, en apportant tout le fer du noyau, pour former l'hémo- " globine? Il est difficile de répondre avec certitude: toutefois, il est infiniment " probable que la seconde hypothèse est la seule vraie et que tout le fer du noyau " passe dans l'hémoglobine de l'hématie ".

Il passaggio dell'eritroblasto in eritrocito si fa gradatamente, insensibilmente, e si possono riassumerne le fasi così brevemente. Imbibizione del suo citoplasma di acqua o di uno speciale succo cellulare; formazione dei granuli o leuciti emoglobigeni: produzione, per parte di questi, dell'emoglobina; costituzione di una membrana cuticolare in sostituzione di quella protoplasmatica; appiattimento del nucleo.

Gli eritrociti.

Così si formano lentamente gli eritrociti o corpuscoli rossi adulti.

In un preparato di sangue fresco di lampreda gli eritrociti si riconoscono immediatamente per il loro colore giallo, dato dall' emoglobina, e sono naturalmente più numerosi di tutti gli altri elementi cellulari. Facilmente si può scorgere che essi non sono ellittici, come taluni dissero, ma circolari: che non sono biconcavi come Wagner (1) anticamente affermò, e come Gage (2) ripetè, ma piatti e leggermente biconvessi come già Gulliver (3) corresse: che infine non si ammucchiano a rotoli di monete, a somiglianza di quelli dei mammiferi, come il Gage ha recentemente affermato.

Il Cuénot (4) nel lavoro già sopra citato, dall'osservazione dei movimenti dei granuli emoglobigeni negli eritroblasti, — non già negli eritrociti — credette di poter dedurre che non vi ha nell'interno dell'emazia adulta dei vertebrati alcuno stroma speciale. Per ciò, secondo lui, tutti gli eritrociti od emazie adulte dei vertebrati non sono da ritenersi che come vescichette ripiene di emoglobina sciolta.

Non è mia intenzione di discutere in questo lavoro questa conclusione del Cuénot che mi pare alquanto recisa e gratuita: ma, se un'emazia adulta non è che una vescichetta piena di liquido e senza stroma, come si spiega la forma sua costante e specialmente quella a disco biconcavo nei mammiferi?

Una così semplice struttura, non che attribuirsi alle emazie adulte di tutti i vertebrati, è appena applicabile a quelle della lampreda comune, ed ancora con alcune restrizioni. Ritiene di fatto il Cuénot che il protoplasma scompaia del tutto dall'emazia per trasformarsi totalmente nella membrana. Ora questo è vero per una parte del protoplasma; non però per tutto, giacchè un residuo di esso, sia pure una minima parte e di importanza affatto secondaria, rimane tuttavia nell'eritrocito a formare i filamenti che insieme congiungono i granuli emoglobigeni.

---

(1) Wagner R., *Neue Beobachtungen über Blut-und Lymphkörnchen der verschiedenen Thieren*, in " Isis ", T. 26, 1833, p. 1011.

(2) Gage S. H., *Form and Size of Red Blood-Corpuscles*, ecc., loc. cit.

(3) Gulliver G., *On certain points*, ecc., loc. cit.

(4) Cuénot L., *Études sur le sang*, ecc., loc. cit., p. 26.

Eccezion fatta di questa particolarità di struttura è però vero che l'eritrocito della lampreda si può considerare come una vescichetta piena di emoglobina sciolta, limitata all'esterno da una membrana estensibile. E come tale esso si comporta.

A quanto pare, la sua densità è appena superiore a quella del plasma sanguigno, per cui, quando vi è sospeso ed in riposo, prende la forma sferica perfetta; forma che deve necessariamente assumere qualunque vescichetta liberamente immersa in un liquido e perciò sottoposta da tutte le parti ad ugual pressione.

Ma se il sangue si distende sul vetrino porta-oggetti per l'esame microscopico, allora gli eritrociti compresi tra due pareti di vetro, e per il proprio peso che li fa poggiare sul porta-oggetti e per la tensione superficiale esercitata dal vetro stesso si schiacciano e si dilatano essendo la loro membrana alquanto estensibile. Conservano pertanto in questo stato il contorno circolare, ma assumono la forma discoide a superfici leggermente convesse. Naturalmente il loro diametro in questo secondo caso diventa maggiore che nel primo.

A contatto coll'aria gli eritrociti della lampreda si alterano nella forma più presto e più facilmente che quelli degli altri vertebrati. Generalmente si ripiegano da due lati a mo' di doccia; altre volte si infossano da una parte sì da assumere una forma concavo-convessa, come già accennò il Gulliver; talora subiscono altri mutamenti che sarebbe lungo il descrivere. Ma tutte queste alterazioni non sono tali da spiegarsi semplicemente come fenomeni di adesione e di tensione superficiale; sì bene, a mio giudizio, sono da attribuirsi a contrazioni del protoplasma sotto l'azione dell'aria. Come avverrebbero esse se, come crede il Cuénot, il protoplasma fosse assolutamente tutto scomparso?

A tutta prima gli eritrociti appaiono di colore giallo-pallido, affatto uniformi; ma se si osserva attentamente e con diaframma conveniente, ben presto si scorgono nella emoglobina i leuciti emoglobigeni, discretamente numerosi e coi loro vivaci movimenti. Essi si vedono pei primi, perchè si trovano verso la periferia della cellula quasi a contatto colla membrana cellulare; posizione che debbono necessariamente avere per render possibile la loro funzione emoglobigena. Difatto, se, come ho supposto, l'emoglobina viene da essi prodotta agendo in modo speciale su una sostanza del plasma del sangue, è naturale, anzi necessario, che essi debbano avere una posizione così periferica per poter essere in relazione strettissima con quello (Fig. 18).

Esaminando sangue fresco, avviene immancabilmente di vedere gli eritrociti trasportati passivamente da piccole correnti che si formano nel preparato. Allora si può avere un'altra prova contro l'opinione del Cuénot, che i granuli sieno liberi nell'emoglobina. Si vedrà cioè, che per quanto gli eritrociti nel passare gli uni fra gli altri si comprimano e cambino di forma in cento modi, i granuli dentro ad essi pur oscillando continuamente, conservano una posizione costante rispetto alle altre parti della cellula. Questo non avverrebbe certo se fossero liberi.

Dopo un tempo più o meno lungo, essendo l'emoglobina in parte fuoruscita dall'eritrocito, allora compare il nucleo, generalmente nel mezzo della cellula. Ben si può vedere che esso non è solidamente fisso, come negli eritrociti di altri vertebrati, ma alquanto mobile, tanto che a poco a poco si va avvicinando alla membrana con movimenti lentissimi. Questi però sono tali da escludere assolutamente che il nucleo sia libero affatto in mezzo all'emoglobina, come vorrebbe il Cuénot.

Sebbene raramente, tuttavia avviene, durante l'esame microscopico di sangue fresco, di osservare un fatto abbastanza curioso. Nelle piccole correnti, talora assai rapide, che si formano tra i vetrini, gli eritrociti trasportati dal plasma si pigiano gli uni contro gli altri e si comprimono e si strozzano. E mi è accaduto qualche volta di vedere che lo strozzamento subìto da taluno di essi fosse tale che una parte se ne staccasse. Allora avviene ciò che già da tempo si conosce come una proprietà della membrana cellulare; nello strappo di una parte della cellula i due lembi della membrana si saldano immediatamente senza permettere che una sola minima goccia di emoglobina fuoresca dall'una e dall'altra delle due parti. Naturalmente in questo brusco distacco il nucleo non vi ha parte alcuna e rimane tutto intiero nell'eritrocito primitivo; per necessaria conseguenza il frammento distaccatosi non possiederà nucleo di sorta. Tuttavia esso avrà portato con sè un certo numero di leuciti emoglobigeni che conserveranno ancora i loro movimenti caratteristici. L'osservazione di questo fatto ha servito a darmi ragione di certi eritrociti che in preparati fissati io aveva veduto privi di nucleo, senza che riuscissi a darmene una spiegazione soddisfacente.

La membrana degli eritrociti è assolutamente liscia e priva di ogni qualsiasi struttura, ciò che permette il perfetto e facile scivolamento degli eritrociti l'uno sull'altro, e dei medesimi sulla parete dei vasi sanguigni. Essa è necessariamente elastica e lo dimostra il fatto che quando l'eritrocito, dapprima sferico, perchè sospeso nel plasma, si appoggia sul vetrino porta-oggetti, come già notai, si appiattisce e si dilata, e riprende la sua forma sferica se di nuovo ne viene distaccato.

Questo cambiamento di forma, seguìto da un inevitabile variare del diametro loro, non ci permette di darne una misura precisa. Del resto anche indipendentemente dalle mutazioni di forma, le dimensioni degli eritrociti sono assai varie ed oscillano tra gli 8 ed i 14 μ.

Il citoplasma degli eritrociti è ben poca cosa in confronto al loro volume. Una certa parte di esso servì alla formazione della membrana; non ne rimane dunque più che una porzione, la quale è distribuita per tutto l'eritrocito in filamenti sottilissimi che costituiscono una rete più o meno fitta. Nel punto d'incontro dei filamenti stanno i leuciti emoglobigeni, i quali però non sono assolutamente tenuti fissi. Questi fili citoplasmatici, circondando il nucleo, lo tengono, sebbene debolmente, legato nel mezzo della cellula (fig. 18). Io non credo che essi abbiano nell'eritrocito una importante funzione; parmi tuttavia che conservino ancora una certa contrattilità, la quale si manifesta specialmente quando l'eritrocito non si trova più nelle sue condizioni normali; e provoca quei molti cambiamenti di forma che essi subiscono a contatto coll'aria.

Il nucleo degli eritrociti è generalmente circolare; talora più o meno irregolarmente ovale, ellittico, o di altra forma, con piccole sporgenze, o gobbe, o con intaccature (fig. 11-17). In ogni caso però esso è sempre tabulare (fig. 12); per cui, mentre misura abitualmente dai 5 ai 5,50 μ di diametro, non ha mai uno spessore superiore ai 2 o 2,10 μ. Il succo nucleare è notevolmente diminuito da quanto era nell'eritroblasto, e la cromatina è riunita in masse più grandi, più irregolari, legate fra di loro da minimi filamenti.

Fra i numerosissimi eritrociti che osservai, mi è avvenuto, non raramente, di

incontrarne di quelli, in cui il nucleo presentava un foro ben netto e ben distinto, o nel centro od eccentrico, e degli altri in cui il foro si continuava con una fessura che si portava fino alla periferia del nucleo, dividendolo così in modo da dargli l'aspetto di un ferro di cavallo, come è disegnato nelle fig. 14-17.

Tale struttura mi ha richiamato alla memoria quei lavori del Flemming (1) e e del Göppert (2), in cui questi autori descrivono nuclei simili in altre cellule e ritengono questo come un modo di divisione indiretta del nucleo. Io sono pure di questo parere per quanto riguarda le cellule, di cui essi trattarono, ed anche per altre. Così ho potuto agevolmente confermare questa loro opinione eziandio per le cellule eosinofile e quelle così dette neutrofile (Erlich) o polinucleate del sangue della rana comune. Ma per gli eritrociti della lampreda, sebbene il fenomeno si presenti nei suoi primordi pressochè nella stessa guisa, non posso venire alla stessa conclusione. Il perforamento del nucleo in questo caso non ha altro ulteriore effetto che una deformazione di esso; giammai non serve alla sua divisione.

Del resto il fatto si spiega molto facilmente. Come già dissi, il nucleo degli eritroblasti si appiattisce a mano a mano che la cellula diventa eritrocito, sino a diventare di forma tabulare. La depressione pare che sia sempre maggiore nel mezzo, perchè non è raro di scorgere dei nuclei di eritrociti, i quali si presentano a mo' di dischi leggermente biconcavi. Quando una simile depressione è ben accentuata, le granulazioni di cromatina, che per avventura si trovano in corrispondenza di essa, si spostano lateralmente, formando coi loro filamenti come una specie di cerchio irregolare (fig. 13). La regione della depressione appare allora necessariamente più chiara del resto, perchè ivi le due pareti del nucleo sono separate solo da uno strato sottilissimo di succo nucleare. Aumentando la depressione, le due pareti si avvicinano sempre più, finchè si toccano, si saldano insieme ed allora avviene nel punto di contatto una soluzione di continuità della membrana nucleare e la formazione di un foro. L'adesione delle due pareti può continuare a farsi per una linea che si estenda dal foro già prodotto fino alla periferia del nucleo ed in tal caso questo apparirà foggiato press'a poco a ferro di cavallo.

Tutto però finisce qui. Nè si ha contemporaneamente strozzature del nucleo e moltiplicazione di esso come nei casi descritti dal Flemming e dal Göppert. Ragione per cui non si ottiene altro che una alterazione della forma del nucleo. Del resto l'appiattirsi del nucleo ha in questo caso una speciale importanza, perchè, segnando in esso una diminuzione di volume e perciò di capacità interna, è ancora una prova in appoggio della mia ipotesi, che il succo nucleare fuoresca da esso per dar origine ai granuli emoglobigeni. Non è d'altronde improbabile che anche negli altri casi il perforamento del nucleo sia dovuto ad una causa simile.

L'importanza del nucleo in un eritrocito adulto io credo che sia ben poca. Quando esso ha prodotto i granuli emoglobigeni, ha compiuto la sua funzione. Tut-

(1) Flemming W., *Amitotische Kerntheilung in Blasenepithel des Salamanders*, in " Arch. f. mikrosk. Anat. ", Bd. 34, 1889, p. 437.

(2) Göppert E., *Kerntheilung durch indirekte Fragmentirung in der lymphatischen Randschicht der Salamandrinenleber*, in " Arch. f. mikrosk. Anat. ", Bd. 37, 1891, p. 375.

tavia è probabile che conservi la proprietà di produrne degli altri, a mano a mano che il bisogno lo richieda. La sua funzione, se non è dunque affatto nulla nell'eritrocito, è però di molto diminuita. Del resto ho già detto altrove, come si trovino talora nel sangue dei corpuscoli rossi privi di nucleo — contenenti però i leuciti emoglobigeni — i quali funzionano precisamente come eritrociti normali.

Quanto duri tutta l'evoluzione di un eritrocito, non è cosa che possa dire. A quanto pare, la sua morte avviene nel sangue stesso in circolazione ed è seguìta dalla morte del nucleo. Io credo almeno che si debbano interpretare come dovuti alla morte naturale della cellula quelle masse che già descrisse e figurò il Müller (1), ma che attribuì invece ad alterazioni subite dal nucleo e dall'eritrocito nel confezionare il preparato. Per quanto agissi colla massima prestezza nel fissare gli elementi, a fine appunto di evitare che questi si alterassero, trovai però sempre fra mezzo ad elementi normali un certo numero di piccoli corpi che si coloravano leggermente in violetto col *bleu* di metilene e che nella struttura corrispondevano perfettamente a quelli descritti dal Müller. D'altronde mi era sempre facile cosa il trovare in ogni preparato tutti gli stadi di passaggio da un nucleo normale al suo ultimo stadio di dissoluzione.

Pare adunque che incominci la cromatina a perdere la sua individualità e si sciolga in certo modo nel succo nucleare stesso. Il nucleo in seguito perde il suo contorno definito ed, a giudicare dalle varie forme che presenta, si direbbe che possegga la proprietà di compiere movimenti ameboidi e di emettere pseudopodi. Si trasforma insomma in una massa omogenea che ha tutta l'apparenza di un plasmodio e nel frattempo dentro ad esso si van formando vacuoli di grandezza e di figura varie. Molto probabilmente sono residui tali di nuclei di eritrociti che Oehl (2) descrisse col nome di masse protoplasmatiche libere del sangue. Questi apparenti plasmodi si diluiscono per così dire sempre più e finiscono per scomparire totalmente nel sangue (fig. 19, 20).

Però, assai prima che questo avvenga, quando appena si sono iniziate nel nucleo le alterazioni ora descritte, la membrana dell'eritrocito si rompe ed i granuli emoglobigeni e l'emoglobina si versano nel plasma sanguigno (fig. 19).

Prima di por termine a questo argomento degli eritrociti, io credo conveniente di richiamare l'attenzione su questo fatto, già menzionato d'altronde dal Renaut (3): che la struttura degli eritrociti della lampreda comune, non solo allo stato di larva, come il Renaut crede, ma anche allo stato adulto, è la medesima che quella degli eritrociti che compaiono negli altri vertebrati nei primi stadi del loro sviluppo. Che inoltre la struttura degli eritrociti della lampreda comune è da ritenersi come la più semplice e primitiva.

---

(1) Müller H. F., *Zur Frage der Blutbildung*, in " Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien ", Bd. 98, 1889, Abth. III, p. 227, tab. V, fig. 6-12.

(2) Oehl E., *Sur les masses protoplasmatiques libres du sang*, in " Arch. ital. de Biologie ", T. VII, 1886, p. 363.

(3) Renaut J., *Recherches sur les éléments cellulaires du sang*, in " Arch. de Phys. norm. et pathol. ", II sér., T. VIII, 1881, p. 669.

I leucoblasti.

I corpuscoli bianchi del sangue della lampreda non furono che molto vagamente indicati dal Wagner (1), descritti imperfettamente e figurati dal Gulliver (2), ridescritti molto confusamente dal Renaut (3), che con molta probabilità li scambiò cogli eritroblasti. Quanto ai due primi autori essi non compresero col nome di linfociti o corpuscoli bianchi del sangue che una sola sorta di corpuscoli, quelli che io indico col nome di leucociti a nucleo polimorfo. Mancano poi affatto nei loro lavori quei dati e quelle particolarità che richiede la scienza moderna; per cui credo opportuno l'esporre i risultamenti che ottenni dalle mie osservazioni, avvertendo, come già dissi, che, senza andare alla ricerca della loro origine, mi limito a descrivere quelle diverse forme di corpuscoli bianchi ch'io trovai nel sangue circolante.

La forma più semplice dei corpuscoli bianchi o cellule bianche od incolore del sangue è rappresentata da quell'elemento che per consentimento generale viene chiamato leucoblasto. Il leucoblasto del sangue di lampreda è una minutissima cellula rotonda del diametro di circa μ. 3,80, con un nucleo di circa μ. 3,30. Come dunque facilmente si scorge, una buona parte del corpo cellulare è rappresentato dal nucleo, che si può dire veramente enorme, paragonato colla massa totale; per cui esso rimane ravvolto da uno strato ben tenue di protoplasma (fig. 21).

In un preparato di sangue fresco i leucoblasti si potrebbero forse confondere coi nuclei degli eritroblasti. Così non è però se, fissati col calore, si colorano col *bleu* di metilene o con altri colori. Allora essi presentano caratteri distintivi tali che non è più possibile la loro confusione.

Uno dei caratteri più spiccati è dato dalla colorazione del nucleo. Quale che sia la sostanza colorante usata, se questa è tale che si possa facilmente fissare sulla cromatina, anche il succo nucleare, come già feci notare, si colora intensamente, di guisa che la cromatina rimane pressochè invisibile, e per ciò, in leucoblasti molto giovani, è necessario ricorrere a decoloranti energici per metterla in evidenza.

Essa, come già Löwit, Denys, Müller ed altri descrissero per i leucoblasti di altri animali, non è come nel nucleo degli eritroblasti distribuita in molte granulazioni riunite da filamenti, ma ammassata generalmente in una massa unica o tutt'al più in due masse che hanno tutta l'apparenza di grandi nucleoli. Alcuni tenui filamenti di cromatina legano queste masse principali alla membrana del nucleo. Ho già detto, ma credo opportuno di ripetere qui, che, contrariamente a quella degli eritroblasti che non si colora affatto coi colori acidi di anilina (fucsina per es.), la cromatina dei leucoblasti si colora debolmente in roseo, con questa sostanza colorante: ciò che rivela forse una diversa costituzione.

---

(1) Wagner R., loc. cit.
(2) Gulliver G., loc. cit., in " Proc. Zool. Soc. London ", 1870, p. 845, fig. 3.
(3) Renaut J., loc. cit.

Il protoplasma è in questo stadio affatto omogeneo e compatto, distribuito in uno strato sottile che ravvolge il nucleo, raramente in modo uniforme, più sovente prevalendo in massa da una parte di esso (fig. 21). Solo raramente mi è occorso di vederlo accumulato ai due poli del nucleo, sì da ricordare vagamente le cellule fusiformi (Spindelzellen) degli altri vertebrati inferiori. Così giovane, questo protoplasma non emette pseudopodi, ma ben presto acquista questa proprietà in modo spiccatissimo.

I leucoblasti aumentano di volume assai rapidamente; ma la prevalenza in questo accrescimento è pur sempre tenuta dal nucleo, mentre il protoplasma cresce relativamente poco. Per contro pare che una maggior attività animi il protoplasma, il quale, non appena l'accrescimento in volume si è iniziato, incomincia a produrre i caratteristici pseudopodi ed a compiere i movimenti ameboidi (fig. 22). Tuttavia non è ancora questo il periodo di vita, nel quale il leucoblasto esplichi la massima vitalità sua in questi movimenti.

I leucociti a nucleo semplice.

Dire da qual momento il leucoblasto diventi leucocito, non è certamente nè facile, nè possibile. D'altronde non ha questo una grande importanza. Merita piuttosto speciale nota il fatto, che, mentre taluni leucoblasti con notevoli ed importanti modificazioni si trasformano in speciali leucociti, che descriverò in seguito, altri (e forse in ugual numero?) dànno origine ai leucociti a nucleo semplice.

Questi leucociti non presentano d' altronde caratteri notevolmente diversi dai leucoblasti. Da questi non si distinguono che per una mole molto maggiore, tantochè la cellula può raggiungere oltre i 13 μ ed il nucleo i 9 μ ed anche più (fig. 23).

Il protoplasma non subisce mutazioni degne di nota nelle sue proprietà chimiche, a giudicare dal modo con cui reagisce colle sostanze coloranti. Esso si conserva omogeneo, senza granulazioni di sorta, ma diventa meno compatto e più o meno ricco di vacuoli. I suoi movimenti ameboidi si fanno più spiccati e gli pseudopodi più numerosi. Si è specialmente nell'osservazione di questi che si rivela la struttura finissimamente filamentosa di questo protoplasma; e vi si può inoltre vedere che nella loro formazione esso si accumula più abbondante all'estremità dei singoli pseudopodi (fig. 23).

Non ho mai incontrato alcuno di questi leucociti che tenesse nel suo protoplasma inglobati dei corpi eterogenei.

A parte la struttura più decisamente filamentosa ed anche assai più compatta del protoplasma di questi leucociti, le proprietà che esso manifesta colle sostanze coloranti, mi parvero affatto simili a quelle del citoplasma degli eritroblasti. Io lo ritengo perciò della stessa natura e concludo pertanto che il corpo protoplasmatico di questi leucociti è unicamente costituito di citoplasma.

Le modificazioni più importanti pare che sieno subìte dal nucleo, durante l'invecchiare del leucocito. Di fatto la cromatina, prima ben distinta in grandi masse coll'apparenza di nucleoli, pare quasi che a poco a poco si sciolga nel succo nucleare

e si risolva poi in un gomitolo di filamenti cromatinici, i quali hanno anche di molto diminuita la proprietà di colorarsi (fig. 23).

Non ho mai visto in questi leucociti alcun caso di divisione nè diretta, nè indiretta.

I leucociti a nucleo polimorfo.

Mentre un certo numero dei leucoblasti modificandosi leggermente produce i leucociti a nucleo semplice, un altro numero (forse uguale?) subisce maggiori modificazioni e dà origine ai leucociti a nucleo polimorfo.

Io indico con questa denominazione dei leucociti che per forma, struttura e proprietà del protoplasma e del nucleo corrispondono ai leucociti detti a granulazioni fini da Max Schultze (feingranulirten Leukocyten) e da Müller; indicati con E-Leukocyten da Erlich; da questo e da altri pure denominati leucociti plurinucleati o multinucleati; infine da taluni designati anche col nome di leucociti a granulazioni neutrofile. Io ho preferito la denominazione di leucociti a nucleo polimorfo, pure proposta dall'Erlich (polymorph-kernigen Leukocyten) perchè allude ad una proprietà che è costante in tutti i vertebrati.

I leucoblasti che daranno origine a questa specie di leucociti si riconoscono ben presto, perchè, non sì tosto hanno raggiunto un mediocre volume, il nucleo, ingrandito a sua volta, cambia a poco a poco di forma ed incurvandosi ed allungandosi passa gradatamente a quella forma così caratteristica di ferro di cavallo o di salsiccia (detta dai francesi molto propriamente *en boudin*) che preludia alla divisione diretta od amitotica (fig. 24-27).

Mentre questo mutamento avviene, incomincia la formazione dei granuli minutissimi che saranno caratteristici di questi leucociti. La prima comparsa di essi si ha intorno al nucleo e, se questo è già incurvato, in maggior quantità compaiono nella sua insenatura. Il che si può mettere bene in evidenza colorando questi leucociti, prima fissati col calore, o col bleu di metilene che li colora leggermente in lilà, oppure colla fucsina acida che li tinge debolmente in roseo. Nei due casi si potrà sempre trarre un buon argomento per giudicare della importanza e della parte diretta che deve avere il nucleo nella produzione di questi granuli (fig. 24-28).

A mano a mano che questi si formano, si allogano nel citoplasma che circonda il nucleo, ed i filamenti citoplasmatici, divaricando ed intrecciandosi, li rinchiudono nelle loro minutissime maglie.

Questo stadio della evoluzione di tali leucociti, caratterizzato dalla produzione incipiente di simili granuli e dalla forma a salsiccia del nucleo, merita di essere considerato in modo tutto speciale per altre proprietà che il leucocito presenta.

È questo il periodo, si può dire, della sua massima vitalità. Questa si esplica principalmente in tre modi: nella formazione dei granuli neutrofili, nella divisione del nucleo ed anche nella manifestazione evidentissima di spiccati movimenti ame-

boidi per opera di numerosi e distinti pseudopodi. Devo tuttavia notare, che nemmeno in queste forme di leucociti non mi è mai avvenuto di trovarne di quelli che includessero nel loro protoplasma dei corpi eterogenei.

Ma sovra tutto poi è degno di nota il fatto che questi medesimi leucociti si comportano, a quanto potei arguire, come le piastrine dei mammiferi e come certe forme speciali di leucociti dei vertebrati inferiori che si considerano da taluni come rappresentanti di quelle e che furono perciò dette piastrine nucleate dal Bizzozero (1), mentre prima erano state credute ematoblasti dall'Hayem, e furono poi anche dette cellule fusiformi (Spindelzellen) da Recklinghausen, trombociti da Dekhuyzen (2). Essi sarebbero i loro veri rappresentanti, non già morfologicamente, ma fisiologicamente.

Io non ho ripetuto nella lampreda gli esperimenti sulla coagulazione e sulla trombosi fatti dal Prof. Bizzozero; ma quanto vidi avvenire nella confezione dei preparati mi colpì per la grande analogia che presentava coi fenomeni descritti dal Bizzozero nel lavoro suddetto.

Di fatto, mentre le altre forme di leucociti si trovano sempre isolate e individualmente ben distinte, nei preparati fissati col calore, queste si presentano generalmente agglomerate e riunite in modo da formare dei falsi plasmodi. Per quanto procedessi colla massima prestezza nella essiccazione dei preparati io non potei mai evitare che si formassero dei gruppi di almeno due o tre di questi leucociti. E, se per qualche causa io avessi ritardato, non fosse che di pochi minuti secondi, a fissare ed essiccare la goccia di sangue distesa sul vetrino, i falsi plasmodi apparivano non più formati di due o tre, ma di parrecchie cellule (fig. 25-26).

E la fusione di tutti questi leucociti si faceva così intimamente che non mi era più possibile il discernere traccia alcuna del loro primitivo singolo contorno, cosicchè nella massa unica e compatta protoplasmatica che ne risultava non poteva altrimenti arguire del numero di cellule che la costituivano, se non dai nuclei che in essa si scorgevano.

Parecchi istologi, fra cui Flemming, Denys, Müller ed altri che non è necessario che io di nuovo menzioni, hanno combattuto vivamente e con felice risultato l'opinione del Löwit che nei leucoblasti non si avesse divisione nucleare indiretta, ma sempre diretta, e che questo fosse uno dei caratteri principali distintivi dei leucoblasti dagli eritroblasti. È quasi certo che eglino abbiano ragione quando si tratti di altri vertebrati, ed io stesso ho avuto occasione di osservare figure evidentissime di cariocinesi nei leucoblasti della rana comune. Ma nel caso presente, nella lampreda, la divisione nucleare dei leucoblasti è senza dubbio sempre amitotica. Io non vidi mai assolutamente nessuna struttura del nucleo che, anche lontanamente, potesse ricordarmi la sua divisione indiretta.

La divisione indiretta del nucleo dopo che esso ha assunto la forma a salsiccia

---

(1) Bizzozero G., *D'un nouvel élément morphologique du sang et de son importance dans la thrombose et dans la coagulation*, in " Arch. ital. de Biol. „, T. III, 1883, p. 114.

(2) Dekhuyzen C., *Ueber das Blut der Amphibien*, in " Verh. d. Anat. Gesellsch. Erganzungsheft d. Anat. Anz. „, 1892, p. 94.

si fa per il suo strozzarsi precisamente nel mezzo, così che i due nuclei che ne risultàno equivalgono alla metà del nucleo primitivo (fig. 28). Che anche la cromatina venga distribuita in parti eguali nell'uno e nell'altro è ciò che non ho potuto osservare.

Avvenuta così la divisione diretta e formatisi due altri leucociti, questi proseguono nello sviluppo iniziato. Il nucleo si accresce ancora ma di poco: mentre invece vanno aumentando notevolmente le granulazioni finissime neutrofile, al punto che il leucocito adulto assume un diametro press'a poco uguale a quello degli eritrociti. Ma, mentre che nei leucociti a nucleo semplice l'aumento in volume è dato dall'accrescimento del nucleo bensì, ma anche dall'aumentare del citoplasma, in questi leucociti il vero citoplasma aumenta di poco ed a sviluppo completo la massima parte del loro corpo è data dalle granulazioni.

Subito dopo la divisione del nucleo, la massa citoplasmatica è ancora preponderante e forma uno strato periferico di un certo spessore, mentre che la parte granulare sta più nell'interno immediatamente intorno al nucleo. In questo periodo il leucocito emette ancora pseudopodi e compie movimenti ameboidi per opera precisamente dello strato citoplasmatico. Sebbene raramente, tuttavia mi è qualche volta avvenuto di incontrare leucociti includenti nel loro corpo dei grossi granuli di pigmento: essi si trovavano però sempre nel periodo di sviluppo ora descritto (fig. 31).

A mano a mano che le granulazioni neutrofile si vanno formando e insinuando nella massa citoplasmatica, questa si divide sempre più in filamenti tenuissimi che le ravvolgono e le tengono rinchiuse nel corpo del leucocito. Talora avviene che una parte del citoplasma venga accumulato in una piccola massa da un lato della cellula (fig. 29), oppure in due o tre più piccole in vicinanza del nucleo (fig. 34). Esse corrispondono probabilmente a quelle masse protoplasmatiche, che l'Heidenhain (1) osservò pure in molti leucociti e che ritenne come rappresentanti di ciò che egli chiama la seconda zona dell'esoplasma o strato medio (Mittelschicht des Exoplasmas).

In generale però, a sviluppo completo, il citoplasma è pressochè uniformemente distribuito in tutto il corpo del leucocito in filamenti tenuissimi fra loro intrecciati (fig. 30-33). In questo ultimo periodo di sviluppo, la proprietà di compiere movimenti ameboidi e di emettere pseudopodi che era andata via via lentamente attenuandosi è scomparsa affatto, ed il leucocito presentasi a forma di disco circolare colle granulazioni alquanto più abbondanti alla periferia.

Il nucleo frattanto, dalla forma pressochè emisferica che aveva dopo la sua divisione, passa a poco a poco ad una forma quasi ovoidea o alquanto irregolare. Manifestasi però sempre vescicoloso con membrana distinta, senza spiccate sporgenze e senza intaccature al suo margine, colla cromatina ancora raggruppata in grandi granulazioni legate fra di loro da filamenti ben distinti, e suscettibili di colorarsi ancora intensamente coi colori di anilina, ed in bleu spiccato col bleu di metilene.

Coll'invecchiare del leucocito esso aumenta di volume, e la cromatina non rimane

---

(1) Heidenhain M., *Neue Untersuchungen über Centralkörper*, ecc., in " Arch. f. mikrosk. Anat. „, Bd. 43, 1894, p. 562.

più accumulata in granuli, ma lentamente si distribuisce in cordoni che assumono nel nucleo una disposizione varia. Nel tempo stesso non si colora più che scarsamente coi medesimi colori che prima la tingevano intensamente, e col bleu di metilene prende una pallida colorazione violacea.

In questo frattempo avvengono quelle modificazioni di forma che sono caratteristiche del nucleo di questi leucociti. Nella lampreda però sono sempre meno numerose e meno varie che negli altri vertebrati. Mentre che nei leucociti a nucleo polimorfo di questi ultimi il nucleo si allunga e poi si strozza dividendosi in più nuclei; oppure dapprima si perfora e quindi si divide in frammenti secondo il modo descritto da Flemming e da Göppert e che poco sopra ho citato: in quelli della lampreda il nucleo si allunga, quindi si ripiega ad arco od a ferro di cavallo, si assottiglia sempre più nel suo mezzo e finisce col dividersi in due parti che possono essere pressochè uguali o disuguali (fig. 32-33). In ogni caso questa divisione del nucleo — che corrisponde affatto al processo ritenuto tipico della divisione diretta, preceduta dalla forma a biscotto del nucleo — non è mai seguìto dalla divisione della cellula.

Le cellule eosinofile.

Se è facile conoscere l'origine delle due sorta di leucociti ora indicati perchè numerose sono le forme intermedie che segnano il passaggio dai leucoblasti ad essi, non è così per le cellule eosinofile. Per quanto abbia ricercato non mi fu dato mai di trovare nel sangue circolante alcune cellule che mi potessero indicare un graduale passaggio dai leucoblasti a questa specie di leucociti.

La presenza di cellule eosinofile perfettamente corrispondenti a quelle state descritte negli altri vertebrati superiori è facile a dimostrarsi nel sangue della lampreda. Se il preparato, essiccato col calore, vien colorato col bleu di metilene, si riconosceranno perchè le loro granulazioni non si colorano affatto, mentre il citoplasma che lo ravvolge si tinge in bleu Prussia, e la cromatina in un bel azzurro. Se poi si tratta con un colore acido di anilina, con la fucsina acida per esempio, esse spiccano più ancora, per la colorazione rossa che assumono i granuli, mentre il nucleo rimane affatto incoloro.

Tali cellule eosinofile hanno forma sferica e per quanto varino alquanto nelle dimensioni da 9 a 14 e più μ, tuttavia sono sempre ricchissime e piene zeppe di granuli, mediocremente grandi e molto rifrangenti. Questi poi hanno sempre la forma sferica o quasi sferica, e non ne vidi mai di quelli a bastoncini, che Bizzozero (1) scoprì e descrisse nel sangue di altri vertebrati, e di cui tennero pure parola in seguito Denys ed altri istologi (fig. 35).

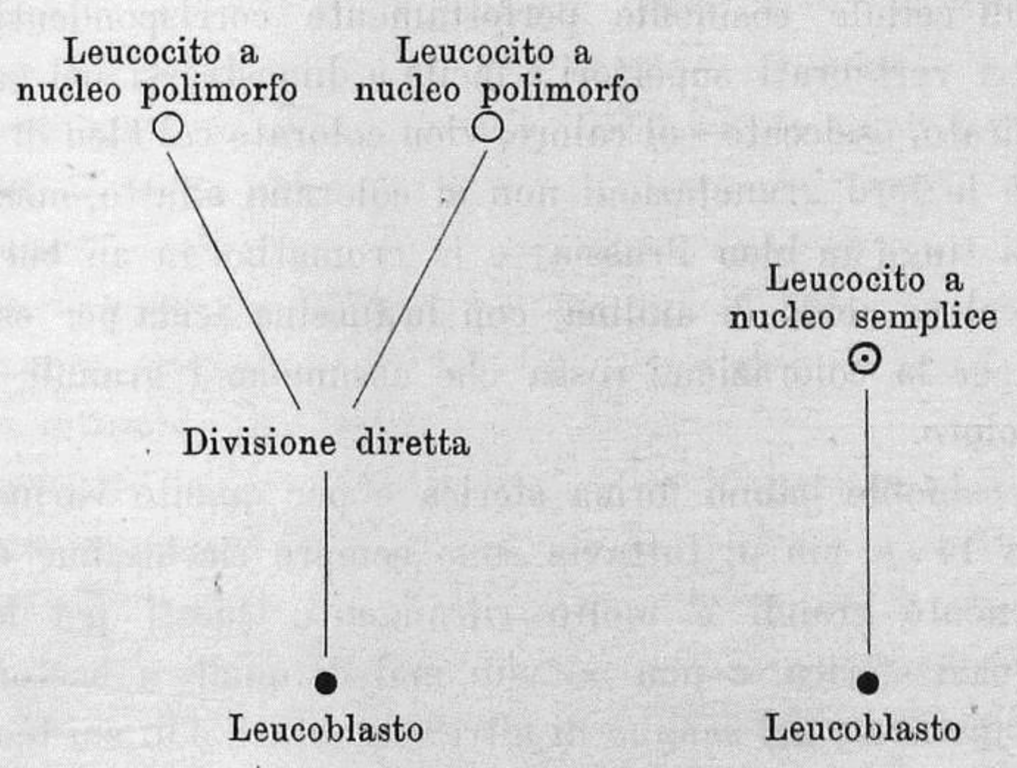
---

(1) Bizzozero e Torre, *Sulla produzione dei globuli rossi del sangue*, in " Arch. per le scienze mediche ", vol. IV, 1881, p. 392, tab. X, fig. 1ª *e*, *f*. — Bizzozero G., *Nuove ricerche sulla struttura del midollo delle ossa negli uccelli*, in " Atti R. Acc. Scien. Torino ", vol. XXV, 1890, p. 172, tav. II, fig. 9, *c*.

Il nucleo delle cellule eosinofile è sempre grande in confronto col volume totale delle cellule e non mi è mai occorso di vederlo di forma regolare sferica od ovoidea. Generalmente esso è spinto dai granuli alla periferia della cellula, dove sottoposto alla loro compressione si incurva, si adatta al contorno della cellula od anche si appiattisce sì da prendere alquanto l'aspetto di nastro, ed una forma più o meno irregolare. La cromatina vi è discretamente abbondante distribuita in masse e cordoni irregolari.

Per quanto riguarda poi la proporzione nel sangue circolante dei diversi elementi ora descritti, senza avere per ciò fatto ricerche apposite che credo prive di interesse, data l'indole di questo lavoro, si può tuttavia in modo generale facilmente concludere: che naturalmente tengono il primo posto per numero gli eritrociti: seguono quindi i leucociti a nucleo polimorfo, poi i leucociti a nucleo semplice, ed i leucoblasti, ed infine le cellule eosinofile che sono assai scarse. Quanto agli eritroblasti il loro numero è troppo soggetto a variazioni dipendenti da varie cause perchè possa essere considerato. Negli individui giovani e nei periodi del loro maggiore accrescimento sono quasi altrettanto numerosi quanto i leucoblasti.

Nella serie ora esposta, i leucociti a nucleo polimorfo tengono a ragione il secondo posto, e la loro abbondanza è facile da notarsi in qualsiasi preparato. Parrebbe con ciò che un numero non uguale, bensì maggiore, di leucoblasti dovesse trasformarsi in questi leucociti per spiegare questa preponderanza loro sui leucociti a nucleo semplice. Ma così non è o, per lo meno, non è assolutamente necessario ricorrere a questa supposizione per darsi ragione del fenomeno. Rappresentando graficamente l'evoluzione delle due sorta di leucociti da un leucoblasto nel modo seguente:



si vede chiaramente, che, anche supponendo in ugual numero i leucoblasti che si svolgono nei due modi, a sviluppo completo, i leucociti a nucleo polimorfo dovranno essere in numero doppio di quelli a nucleo semplice, per l'avvenuto sdoppiamento nel periodo della divisione diretta che ho descritto.

Conclusioni.

Da quanto ho sopra esposto si possono dedurre le seguenti principali conclusioni:

1° Gli eritrociti o globuli rossi della lampreda comune hanno forma di vescichette sferiche ripiene di emoglobina, sparsa fra lo scarso citoplasma. Essi hanno membrana distintissima e nucleo discoide. Fra l'emoglobina, legati dai filamenti del citoplasma, stanno i granuli emoglobigeni.

2° Fra tutti i vertebrati adulti la lampreda comune presenta gli eritrociti a struttura più semplice.

3° La struttura degli eritrociti della lampreda corrisponde sostanzialmente a quella che gli eritrociti degli altri vertebrati presentano nei primi stadi del loro sviluppo.

4° Gli eritrociti derivano dagli eritroblasti per la formazione dell'emoglobina accompagnata da altri mutamenti secondari.

5° Gli eritroblasti si distinguono per molti caratteri dai leucoblasti e molto probabilmente non hanno uno stipite comune di origine.

6° La produzione di emoglobina ha luogo per opera dei granuli o leuciti emoglobigeni.

7° I granuli emoglobigeni non mancano mai negli eritroblasti di tutti i vertebrati.

8° I granuli emoglobigeni nella lampreda perdurano anche negli eritrociti: scompaiono invece, come granuli, negli eritrociti degli altri vertebrati.

9° I granuli emoglobigeni provengono dal nucleo, e forse dallo stesso succo nucleare.

10° L'emoglobina vien prodotta per opera dei granuli o leuciti emoglobigeni, che la tolgono dal plasma sanguigno per trasformazione di una sostanza in esso preesistente.

11° I vivaci movimenti browniani dei leuciti emoglobigeni sono indizio, probabilmente, di questo scambio molecolare.

12° Gli eritroblasti in circolazione non si riproducono mai per divisione indiretta: forse, ma raramente, per divisione diretta. Gli eritrociti non si riproducono mai.

13° I leucociti a nucleo semplice ed i leucociti a nucleo polimorfo provengono da una medesima sorta di leucoblasti.

14° I leucoblasti si riproducono per divisione nucleare diretta: giammai per divisione indiretta.

15° Le fini granulazioni neutrofile dei leucociti a nucleo polimorfo provengono probabilmente dal nucleo.

16° La divisione amitotica del nucleo di questi leucociti adulti non è mai seguita dalla divisione del corpo della cellula.

17° Stando alle più comuni e generalmente accettate divisioni dei corpuscoli bianchi del sangue degli altri vertebrati, essi sono nella lampreda così rappresentati:

a) i leucoblasti, i leucociti a nucleo semplice, i leucociti a nucleo polimorfo e le cellule eosinofile da elementi perfettamente loro equipollenti, salvo la loro origine;

b) le cellule granulose (Mastzellen dei Tedeschi) mancano affatto nella lampreda, nè vi ha alcun elemento che li rappresenti;

c) le piastrine dei mammiferi, e le cellule fusiformi (Spindelzellen) o trombociti, degli altri vertebrati inferiori, sono nella lampreda rappresentate, non morfologicamente da uno speciale elemento, ma solo fisiologicamente da leucoblasti in quel periodo di sviluppo che precede immediatamente la divisione diretta del loro nucleo.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Tutte le figure sono state disegnate alla camera lucida di Abbe: ocul. 4, obb. apocromat 1,5^{mm}, apert. 1,30 Zeis: tubo del microscopio evaginato 165^{mm}. Proiezione sul tavolo da lavoro. Ingrandimento circa 1818 diametri, 1^{mm} = μ 0,55.

Fig. 1-10. — Eritroblasti in diversi stadi di sviluppo — Fig. 1-5, eritroblasti disegnati allo stato fresco, per mostrare le diverse forme prese dal protoplasma ialino — Fig. 1, eritroblasto più giovane mancante ancora di granuli emoglobigeni — Fig. 2, eritroblasto con un solo granulo emoglobigeno accanto al nucleo — Fig. 3-5, stadi più avanzati di sviluppo con 2, 4 e più granuli emoglobigeni — Fig. 6-8, eritroblasti colorati per mostrare la struttura del protoplasma e del nucleo — Fig. 8, eritroblasto a nucleo grande, ovale — Fig. 9, eritroblasto con nucleo in via di divisione diretta (?) — Fig. 10, stadio ulteriore in cui la divisione diretta è avvenuta; i due nuclei figli sono già separati ma strettamente avvicinati.

Fig. 11-12. — Due eritrociti; in fig. 11 il nucleo visto di fronte; in fig. 12 alquanto di profilo per mostrare la sua forma tabulare.

Fig. 13-17. — Eritrociti con nuclei di forma diversa; in fig. 13 è prossima la perforazione del nucleo; in fig. 14 e 15 il nucleo è perforato; in fig. 16 e 17 la perforazione è seguita dal fendersi del nucleo.

Fig. 18. — Eritrocito: per mostrare la rete dei filamenti citoplasmatici ed i granuli emoglobigeni posti nel loro punto d'incrocio (alquanto schematica).

Fig. 19-20. — Due stadî di dissoluzione di un nucleo di eritrocito.

Fig. 21. — Leucoblasto giovanissimo, senza pseudopodi.

Fig. 22. — Leucoblasto un po' più vecchio con pseudopodi.

Fig. 23. — Leucocito a nucleo semplice con abbondante citoplasma, numerosi pseudopodi e alcuni vacuoli; il nucleo è molto grande, ovale, colla cromatina distribuita in filamenti sottilissimi aggomitolati.

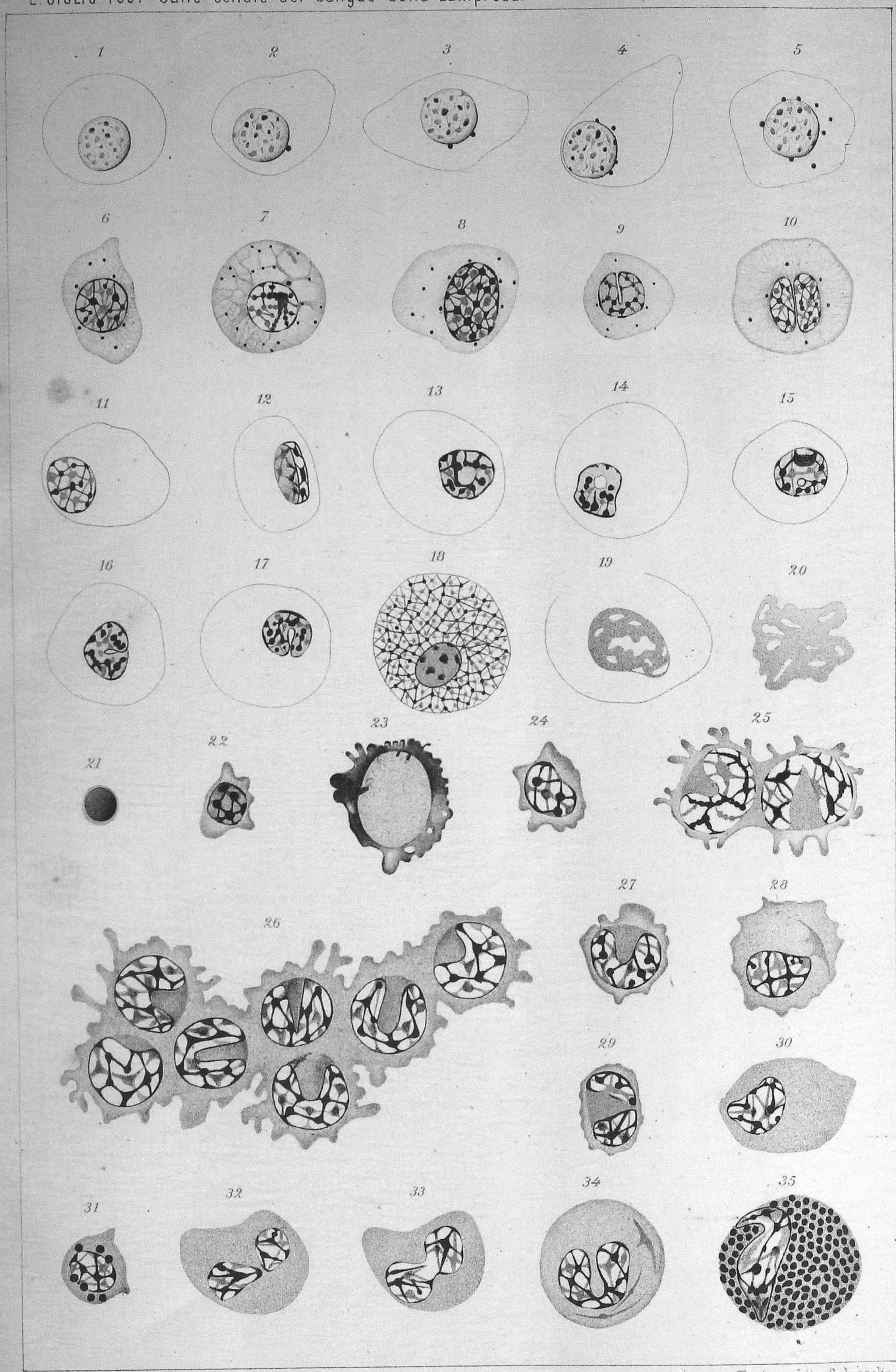
Fig. 24-27. — Leucoblasti in cui il nucleo si prepara alla divisione diretta per dar origine ai leucociti a nucleo polimorfo — Fig. 24, primo stadio; inizio della curvatura del nucleo — Fig. 25-26, falsi plasmodi formati dal riunirsi, in fig. 25 di due, in fig. 26 di sette leucoblasti (i nuclei della fig. 25 sono stati alquanto gonfiati dall'azione dell'ammoniaca messa nel *bleu* di metilene). In tutte queste figure la parte più scura compresa nell'insenatura del nucleo indica il luogo della prima comparsa dei granuli neutrofili.

Fig. 28. — Leucoblasto in cui la divisione del nucleo è appena avvenuta.

Fig. 29-34. — Leucociti a nucleo polimorfo — Fig. 29-31, ancora alquanto giovani e perciò il nucleo ancora poco modificato; in fig. 29 la massa più scura a destra del nucleo rappresenta un ammasso di citoplasma privo di granulazioni neutrofile: in fig. 31 un leucocito ancora giovane che rinchiude nel protoplasma 7 granuli di pigmento; in fig. 33-34 i nuclei dei leucociti sono in via di divisione; in fig. 34 le macchie allungate più scure rappresentano come in fig. 29 masse di citoplasma privo di granulazioni; in fig. 32 la divisione del nucleo è avvenuta.

Fig. 35. — Cellula eosinofila.

E. GIGLIO-TOS. Sulle cellule del sangue della Lampreda.



E. Giglio-Tos dis.

Torino - Lit. Salussolia